



Universidad  
Carlos III de Madrid

INGENIERÍA INDUSTRIAL

PROYECTO FIN DE CARRERA

**ANÁLISIS PREVIO DE BIOCOMPATIBILIDAD DE UN  
MATERIAL COMPUESTO DE HAp-Ti FABRICADO  
POR PULVIMETALURGIA**

AUTOR: Enrique Picornell Pérez

TUTORES: Elena Gordo Odériz

Federico García Galván

**Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química**

Leganés, julio 2013

## AGRADECIMIENTOS:

*“Es justamente a posibilidad de realizar un sueño lo que torna la vida interesante.”*

*El Alquimista - Paulo Coelho*

Me gustaría dar las gracias a todas aquellas personas, profesores, compañeros y amigos, que durante estos años han hecho que en mi vida haya tantos sueños.

Merecen especial mención, Elena por darme la oportunidad de llevar a cabo este proyecto que formaba parte de uno de mis sueños, Fede y compañía por todas las horas compartidas cuando apenas tenían tiempo para nada. Sin olvidarme de Cristina cuyos sabios consejos ayudo a salvar más de una tarde en el laboratorio.

No puedo evitar incluir en estas líneas a mis padres, que siempre han estado dándome el apoyo que necesitaba, a mi hermano y mis amigos que han conseguido que este camino se hiciese inolvidable.

## INDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT: .....</b>	<b>VII</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. INTRODUCCIÓN A LA BIOCOMPATIBILIDAD .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. TITANIO .....</b>	<b>7</b>
1.2.1. <i>Historia del titanio .....</i>	<i>8</i>
1.2.2. <i>Características del Ti y sus aleaciones .....</i>	<i>9</i>
1.2.3. <i>El Ti y sus aleaciones como biomaterial.....</i>	<i>13</i>
<b>1.3. HAP .....</b>	<b>16</b>
1.3.1. <i>Historia de la HAp.....</i>	<i>16</i>
1.3.2. <i>Características de la HAp.....</i>	<i>16</i>
1.3.3. <i>Aplicaciones de la HAp en biomateriales.....</i>	<i>19</i>
<b>1.4. BIOMATERIALES DE Ti+HAP .....</b>	<b>19</b>
1.4.1. <i>Recubrimientos de HAp sobre Ti en biomateriales .....</i>	<i>20</i>
1.4.2. <i>Materiales compuestos HAp/Ti. ....</i>	<i>24</i>
<b>2. MOTIVACIÓN .....</b>	<b>29</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
<b>4. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1. MATERIALES .....</b>	<b>31</b>
4.1.1. <i>Procesamiento muestras TSS y SPS:.....</i>	<i>32</i>
4.1.2. <i>Two Step Sintering (TSS) .....</i>	<i>33</i>
4.1.3. <i>Spark Plasma Sintering (SPS) .....</i>	<i>34</i>
<b>4.2. ESTUDIO DE BIOACTIVIDAD.....</b>	<b>36</b>
4.2.1. <i>Fundamentos de la deposición de Ca y P.....</i>	<i>37</i>
4.2.2. <i>Estudio mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).....</i>	<i>38</i>
<b>4.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES.....</b>	<b>40</b>
4.3.1. <i>Caracterización microestructural por difracción de rayos X (DRX) .....</i>	<i>40</i>
4.3.2. <i>Microdureza [72] [73].....</i>	<i>41</i>
<b>4.4. DESARROLLO DEL PROCESO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>43</b>
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIONES. ....</b>	<b>47</b>
<b>5.1. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X .....</b>	<b>47</b>
5.1.1. <i>Muestras SPS .....</i>	<i>47</i>
5.1.2. <i>Muestras TSS .....</i>	<i>50</i>
<b>5.2. ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DEL BIOCOMPOSITE HAP/Ti EN UN SBF .....</b>	<b>54</b>
5.2.1. <i>Muestras SPS .....</i>	<i>55</i>
5.2.2. <i>Muestras TSS .....</i>	<i>62</i>
5.2.3. <i>Estudio conjunto muestras SPS y TSS.....</i>	<i>73</i>



<b>5.3. DETERMINACIÓN DEL MÓDULO DE ELASTICIDAD .....</b>	<b>75</b>
5.3.1. Muestras SPS .....	75
5.3.2. Muestras TSS .....	76
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>78</b>
<b>7. TRABAJOS FUTUROS .....</b>	<b>79</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>80</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>87</b>
ANEXO I: FUNDAMENTOS Y TEORÍA DEL USO DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO. ....	88
ANEXO II: DIFRACCIÓN DE RAYOS X [86] [87] [88] [89] [90].....	91

## ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1-1 Prótesis egipcia, hecha en madera y cuero fijada mediante un hilo de oro, descubierta en 2007. [1] .....	1
Figura 1-2 Gráfico del informe de Naciones Unidas sobre el envejecimiento de la población. [4] .....	2
Figura 1-3 Posibles aplicaciones de los biomateriales. [12] .....	3
Figura 1-4 Esquema análisis de la funcionalidad y la biocompatibilidad de los materiales.....	5
Figura 1-5 Piedras conseguidas por el proceso de extracción y purificación del Ti.....	9
Figura 1-6 A) Fase $\alpha$ . Estructura hcp B) Fase $\beta$ . Estructura bcc .....	11
Figura 1-7 Diagramas de equilibrio del Ti con diferentes elementos estabilizadores. [23].....	12
Figura 1-8 Resumen del efecto de los aleantes en las propiedades del Ti. [13] [20].....	13
Figura 1-9 Comparación de módulo de Young para distintas biomateriales [23] .....	14
Figura 1-10 Red cristalina de la HAp a) Hexagonal b) monoclinica.....	17
Figura 1-11 Proyección térmica por Alta Velocidad [3] .....	21
Figura 1-13 Partes de un hueso.....	24
Figura 1-12 Estructura del hueso. ....	24
Figura 1-14 Representación esquemática del ciclo de procesamiento en el caso de un sinterizado clásico (CS), Two Step Sintering (TSS) y Spark Plasma Sintering (SPS) .....	26
Figura 1-15 Esquema de un equipo de SPS .....	27
Figura 1-16 Efecto de la fracción en volumen del refuerzo de partículas sobre el módulo y la deformación de ruptura del composite polietileno de alta densidad (HPDE) - HAp [41].....	28
Figura 4-1 Ejemplo de las muestras de material compuesto de las que se dispone, las dos de la izquierda son de tipo TSS y las tres de la derecha de tipo SPS .....	32
Figura 4-2 Representación esquemática y comparación del ciclo térmico clásico (CS) y del ciclo de sinterizado en dos etapas (TSS).....	33
Figura 4-3 Representación esquemática y comparación del ciclo térmico clásico (CS), el ciclo Two Step Sintering (TSS) y el ciclo de compactación y sinterización Spark Plasma Sintering (SPS) .....	35
Figura 4-4 Esquema de la reacción del Ti ante un SBF.....	38
Figura 4-5 SEM Philips XL-30 .....	39
Figura 4-6 Máquina de sputtering utilizada. ....	40
Figura 4-7 Esquema de la pulverización catódica. [85].....	40
Figura 4-8 DRX Philips MRD X' pert.....	41
Figura 4-9 Esquema de la profundidad máxima para evitar la influencia del sustrato .....	42
Figura 4-10 Curva carga aplic./Prof. penetración .....	42
Figura 4-11 A) Desbastadora Buehler B) Pulidora Struers Dap-7.....	43
Figura 4-12 Imágenes del equipo utilizado para la exposición de las muestras al SBF, a la izq. incubadora que mantiene la temperatura a 36.5°C y a la izquierda recipiente donde se introducen las piezas y se llena con SBF. ....	45
Figura 5-1 Difractograma de los resultados superpuestos obtenidos de la resina de embutición y de la muestra 4 (SPS).....	47
Figura 5-2 Difractograma de la resina de embutición ampliando el rango de $2\theta$ .....	48

Figura 5-3 Fotografías de la resina de embutición tomadas en BSE a A) 100 y B) 500 aumentos y 15 kV.....	48
Figura 5-4 Resultados de los análisis por EDS de A) puntos blancos, B) punto gris y C) zona negra .....	49
Figura 5-5 Difractograma de la muestra 4 (SPS) obtenido tras el tratamiento de los datos .....	50
Figura 5-6 Difractograma de las muestras 2, 4.3 y 4.5 indicando los componentes identificados .....	51
Figura 5-7 Zoom 6500x (BSE) a 30 días de la muestra 3 y análisis semi-cuantitativos .....	56
Figura 5-8 Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo .....	58
Figura 5-9 Zoom 6500x (BSE) a 15 días de la muestra 4 y análisis semi-cuantitativos (A y B) ...	60
Figura 5-10 Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo .....	61
Figura 5-11 Análisis semicuantitativo a 6500 aumentos 1.....	63
Figura 5-12 Zoom 6500x a 30 días de la muestra 2.....	63
Figura 5-13 Análisis semicuantitativo a 6500 aumentos 2.....	63
Figura 5-14 Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo .....	65
Figura 5-15 Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo de la muestra 2 (1º lote).....	65
Figura 5-16 Zoom 6500x (BSE) a 7 días de la muestra 4.3 y análisis semi-cuantitativos (A y B). 68	
Figura 5-17 Zoom 6500x (BSE) a 30 días de la muestra 4.3 y análisis semi-cuantitativo.....	68
Figura 5-18 Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo .....	69
Figura 5-19 %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo de la muestra 4.3 (1º lote) .....	70
Figura 5-20 Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo .....	72
Figura 5-21 Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo de la muestra 4.3 (1º lote) .....	73
Figura 5-22 Comparación de la %Wt de Ca de todas las muestras.....	73
Figura 5-23 Representación del E y de la H de las muestras 4 y 3 (SPS) .....	76
Figura 5-24 Representación del E y de la H de las muestras 2,4.3 y 4.5 (TSS) .....	77
Figura AI-0-1: Diagrama de bloques de una fuente de filamento de tungsteno. [81] .....	88
Figura AI-0-2: Esquema general SEM [85] .....	88
Figura AI-0-3: Esquema de las interacciones entre la muestra y los electrones [83] .....	89
Figura AI-0-4 Interacciones elásticas e inelásticas. ....	90
Figura All-0-1 Esquema de un tubo de rayos X de cátodo incandescente.....	91
Figura All-0-2 Ejemplo de difractómetro de rayos X:.....	92
Figura All-0-3 Difracción de rayos X por los planos de un cristal (onda constructiva).....	93

## INDICE DE TABLAS:

Tabla 1-1 Aleaciones metálicas usadas como biomateriales. [20].....	7
Tabla 1-2 Clasificación Ti según norma ASTM F67 .....	9
Tabla 1-3 Propiedades mecánicas de los diferentes grados del Ti cp. Según norma ASTM F67	10
Tabla 1-4 Características físicas del Ti .....	10
Tabla 1-5 Elementos estabilizadores de las fases del Ti.....	12
Tabla 1-6 Parámetros de red de la estructura hexagonal y monoclinica [43] .....	17
Tabla 1-7 Resumen de propiedades físicas y mecánicas de la HAp hexagonal.....	18
Tabla 1-8 Ventajas y desventajas de diferentes técnicas para depositar HAp sobre un sustrato metálico. [3] .....	22
Tabla 1-9 Resumen especificaciones de recubrimientos de HAp según normas ISO, ASTM. ....	23
Tabla 4-1: Parámetros de los procesos SPS y TSS .....	31
Tabla 4-2: Resumen número de piezas disponibles.....	32
Tabla 4-3 Parámetros tecnológicos de la sinterización por TSS.....	34
Tabla 4-4 Parámetros generales del procesado por SPS.....	34
Tabla 4-5 Composición Solución Lactato de Ringer. ....	36
Tabla 4-6 Tiempos de exposición a disolución Ringer.....	37
Tabla 4-7: Características del SEM Philips XL-30.....	39
Tabla 4-8 Parámetros utilizados en el estudio por DRX.....	44
Tabla 4-9 Resumen cantidad de muestras disponibles y repeticiones realizadas. ....	46
Tabla 5-1 Resumen de ratio Ca/P calculado a partir del análisis EDS del SEM .....	52
Tabla 5-2 Imágenes SEM para material compuesto tipo 3 .....	55
Tabla 5-3 Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de la Figura 5-7 .....	57
Tabla 5-4 Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P de la muestra 3.....	57
Tabla 5-5 Imágenes SEM para material compuesto tipo 4 .....	58
Tabla 5-6 Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de la Figura 5-9 .....	60
Tabla 5-7 Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P de la muestra 4.....	61
Tabla 5-8. Imágenes SEM para material compuesto 2.....	62
Tabla 5-9 Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de las Figuras 5-11 y 5-13 ...	64
Tabla 5-10 Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P.....	64
Tabla 5-11 Valor de la concentración de Ca y P en los diferentes periodos de exposición .....	66
Tabla 5-12 Imágenes SEM para el material compuesto 4.3.....	66
Tabla 5-13 Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de las Figuras 5-17 y 5-18 .	68
Tabla 5-14 Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P.....	69
Tabla 5-15 Imágenes SEM para el material compuesto 4.5.....	70
Tabla 5-16 Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P.....	72
Tabla 5-17 Resumen de los valores obtenidos de H y E en la prueba de microdureza de las muestras 3 y 4 .....	75
Tabla 5-18 Resumen de los valores obtenidos de H y E en la prueba de microdureza de las muestras 2, 4.3 y 4.5 .....	76

## RESUMEN

En el presente Proyecto Fin de Carrera se ha realizado un análisis previo de biocompatibilidad de un material compuesto de HAp-Ti fabricado por dos rutas pulvimetalúrgicas diferentes, Spark Plasma Sintering (SPS) y Two Step Sintering (TSS).

Actualmente los materiales más utilizados como biomateriales son Ti o alguna de sus aleaciones, la más común Ti6Al4V que según se ha demostrado crea problemas de salud a largo plazo, y que además resultan económicamente costosas. La pulvimetalurgia ofrece la posibilidad de flexibilizar la composición y el método de fabricación. En este trabajo se estudia un material compuesto fabricado por pulvimetalurgia que no podría ser fabricado por otras técnicas. El material contiene como fase mayoritaria hidroxiapatita (HAp) a la que se añade TiH<sub>2</sub> que se transformará en Ti durante la sinterización; esta es una combinación novedosa tanto en composición, como en la forma de procesamiento: Two Step Sintering (TSS) y Spark Plasma Sintering (SPS). Dicha composición tiene como objeto obtener un comportamiento bioactivo en el proceso de integración.

Las muestras objeto de estudio proceden de la colaboración con la Universidad de Craiova, Rumanía, donde han sido fabricadas. Adicionalmente al estudio de bioactividad, las muestras fueron caracterizadas mediante diferentes técnicas: microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de rayos X (DRX), medida de dureza y módulo de elasticidad mediante nanoindentación.

Para analizar la bioactividad de las piezas se estudia la interacción que estas presentan con un fluido que simula el entorno fisiológico en el que se encuentran sumergidas, en concreto, disolución de Lactato de Ringer. Tal interacción se evalúa realizando un seguimiento de la deposición de Ca sobre las muestras provenientes del mismo fluido. Para ello se hace uso de la tecnología de microscopía electrónica de barrido (SEM) y de microanálisis semicuantitativos (EDS-EDAX).

Tras el estudio se ha identificado la ruta de procesado que da lugar a muestras con la mejor combinación de bioactividad y propiedades mecánicas.

Por otro lado, tras el análisis y estudio de los resultados se ha podido concluir que el método utilizado para evaluar la respuesta de los materiales compuestos ante un fluido que simula el entorno fisiológico resulta válido. Estos resultados se contrastan con los obtenidos en estudios previos similares realizados por otros autores en materiales similares.





## ABSTRACT:

A previous biocompatibility study of a composite material has been done in this final degree project. The composite material is composed of a mixture of Hydroxyapatite-Titanium (Hap-Ti) processed by two different ways, Spark Plasma Sintering (SPS) and Two Step Sintering (TSS).

Nowadays the most commonly used materials used as biomaterials are Ti or some of its alloys, being the Ti6Al4V the most widely used even though it has been demonstrated that it is expensive and it causes long term health problems. A powder metallurgy route offers the possibility of tailoring the composition and the method of fabrication. In this work, a composite material which could not be processed by other means is studied. The material is made of a main phase of HAp and of a superficial phase of  $TiH_2$  that will become Ti during the sinterization. This combination of composition and manufacturing process is a novel approach. The goal of this composition is to obtain a bioactive behavior during the integration process.

Samples were supplied by Craiova's University, Rumania, where they have been manufactured. Besides the biocompatibility study, samples were characterized by different techniques as Scanning Electron Microscopy (SEM), X-Ray Diffraction (XRD) hardness and Young's modulus by nanoindentation.

In order to analyze the bioactivity of the samples the interaction of them with a simulated body fluid (Lactated Ringer's solution) has been studied. The interaction is assessed by monitoring the deposition of Ca, which comes from the fluid, on the samples. For this purpose it is used the technology of Scanning Electron Microscope (SEM) and Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS-EDAX).

After the study it has been identified the manufacturing process which results in the samples with the best combination of bioactivity and mechanical properties.

After the analysis and the study of results it has been concluded that the method used for evaluating the behavior of composite materials in the presence of a simulated body fluid is a suitable one. These results are compared with the results obtained in previous studies made by other authors with similar materials.

## 1. Introducción

Las evidencias arqueológicas encontradas hasta el momento han demostrado que el uso de los biomateriales se remonta al antiguo Egipto (Figura 1-1). Así desde ese momento y hasta nuestros días su uso ha ido aumentando a medida que han mejorado las técnicas quirúrgicas. El punto de inflexión para su repercusión en la medicina tiene lugar cuándo se desarrolla la anestesia y los rayos X en el siglo XIX.



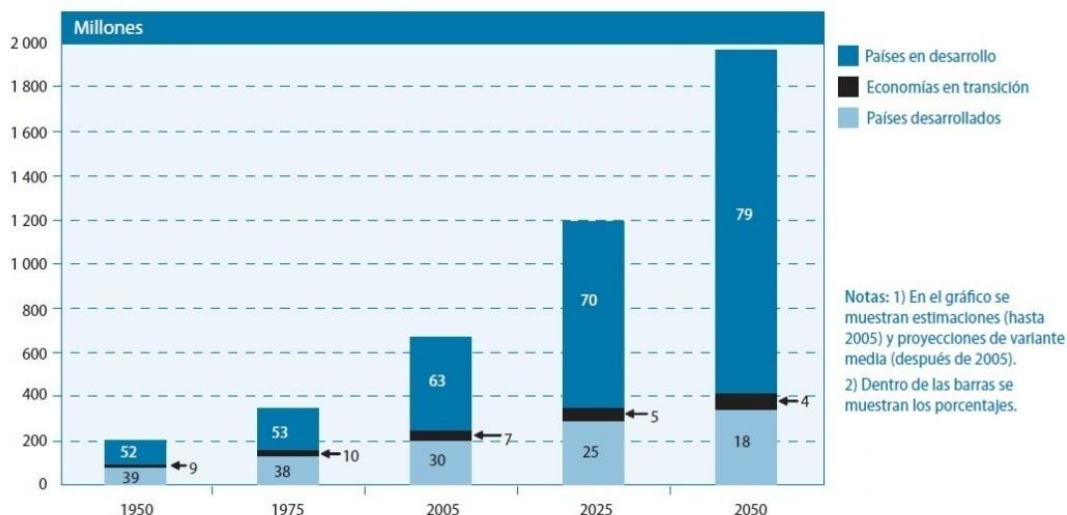
**Figura 1-1** Prótesis egipcia, hecha en madera y cuero fijada mediante un hilo de oro, descubierta en 2007. [1]

La comercialización del titanio y sus aleaciones con fines médicos a finales del siglo XX tiene su origen en el descubrimiento que realiza en la década de los 60 Per-Ingvar Branemark, eminente científico sueco, que fue el primero en hallar las propiedades de biocompatibilidad y osteointegración del titanio. No obstante, existen otros biomateriales utilizados ampliamente a lo largo de la historia como puede ser el caso de metales y sus aleaciones, los materiales poliméricos y cerámicos. En resumen, prácticamente todas las familias de los materiales disponen de composiciones que pueden ser utilizadas este campo. [2]

El término biomaterial –como se tratará en el siguiente apartado- se refiere a aquellos materiales usados como implantes en un organismo vivo sin que este los rechace. En cuanto a los más usuales se pueden citar los siguientes; dentro de los metales están el Ti comercialmente puro y la aleación Ti6Al4V, los aceros inoxidables y las aleaciones de Co; dentro de los cerámicos están la hidroxiapatita y el  $Al_2O_3$  y dentro de los poliméricos están el polietileno, albúmina o polimetilmetacrilato. [3]

Por otro lado, para dar una idea de la proyección y el interés existente en los biomateriales basta con fijarse en algunos datos, por ejemplo en el año 2004 más de cincuenta millones de personas tenían implantada algún tipo de prótesis. Además el uso de prótesis está íntimamente relacionado con la edad de la población y según un informe de Naciones Unidas de 2007 [4] (Figura 1-2) se prevé que para 2050 el 79% de la población mundial sea mayor de 60 años lo que implica una cantidad de más de 1600 millones de personas como futuros usuarios. Desde el punto de vista económico según el libro [5] en el año 2001 el mercado

mundial de los biomateriales superó los 120 mil millones de dólares y actualmente se estima esta cifra en unos 200 mil millones de dólares [6] [7] [8]. Con estas cifras se puede entender la importancia que tiene este campo de la ingeniería y el que tendrá.



**Figura 1-2** Gráfico del informe de Naciones Unidas sobre el envejecimiento de la población. [4]

En esta introducción se incluye además un resumen sobre conceptos de biocompatibilidad, una breve revisión del uso del titanio y sus aleaciones, y de la hidroxiapatita, como materiales biocompatibles, así como la combinación de ambos.

### 1.1. Introducción a la biocompatibilidad

A lo largo de los años el concepto de biocompatibilidad ha ido evolucionando al tiempo que la ciencia descubría nuevos materiales susceptibles de ser usados en biomedicina y se encontraban nuevas respuestas por parte del organismo. Así la definición que actualmente se puede encontrar en la Real Academia de la Lengua Española (RAE) sobre el término biocompatibilidad es el siguiente:

*“Ausencia de reacciones alérgicas, inmunitarias, etc., en el contacto entre los tejidos del organismo y algunos materiales”* [9]

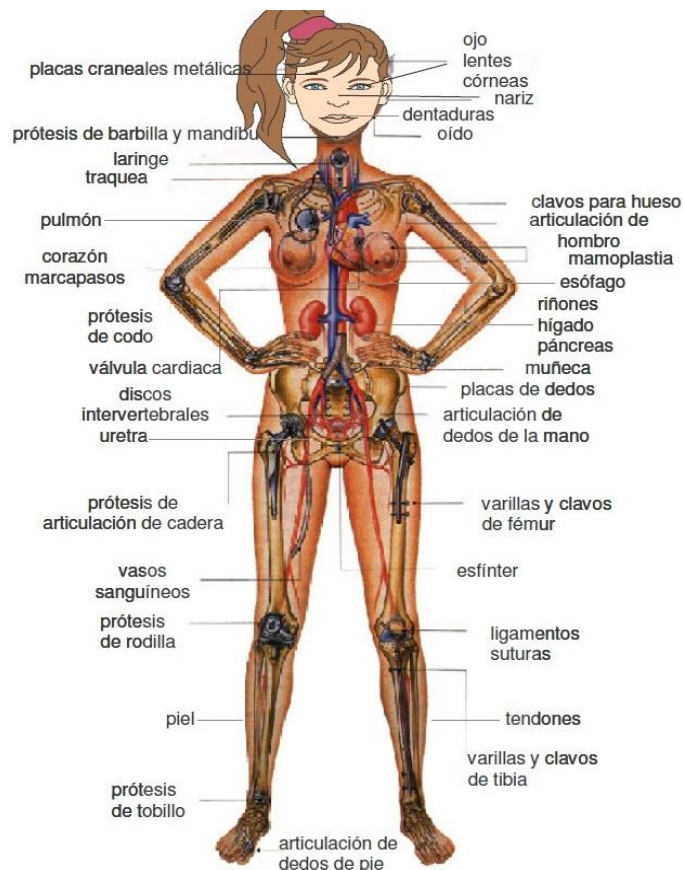
Sin embargo esta definición resulta incompleta y sería más correcta la siguiente, a pesar de lo cual esta no ayuda a mejorar la comprensión del concepto de la biocompatibilidad:

*“La biocompatibilidad se refiere a la habilidad de un material para generar una respuesta adecuada en el organismo anfitrión en una situación específica”.* [10]

En este sentido se podría seguir dando definiciones, cada una más completa y compleja que la anterior, sin llegar a ser esta del todo correcta puesto que para

cada situación y persona es diferente. Ya que no es objeto de este proyecto resolver esta cuestión resulta aceptable quedarse con el concepto general de la definición anterior y recordar que según el caso esta necesita de algunos matices. Así de aquí en adelante se tratara de dar una visión general sobre este tema deteniéndose en aquellos puntos que se han considerado de mayor interés. [11]

Las aplicaciones de los biomateriales son muy diversas tal y como se puede apreciar en la Figura 1-3, pero también existen otras aplicaciones no estructurales como son los implantes liberadores de fármacos.



**Figura 1-3** Posibles aplicaciones de los biomateriales. [12]

Uno de los primeros aspectos que resulta importante conocer en la biocompatibilidad es la respuesta del sistema inmunológico ante la introducción de objetos ajenos al organismo; esta va desde la aceptación al ataque a dicho objeto pasando por el rechazo. Las dos últimas se manifiestan con una serie de síntomas como son las inflamaciones, dolores, fiebre, etc, que puede acabar desembocando en la retirada de la prótesis. Para minimizarla hay que intentar seleccionar adecuadamente el material de manera que no altere el medio en el que se implanta, esto es, que no sea tóxico. Asimismo resulta importante que la sangre no sea contaminada de ninguna forma y deben estudiarse los efectos del material sobre ésta y viceversa.

Así pues, cuando se habla de que un material es biocompatible, en el sentido amplio de la palabra, significa que su uso no tiene efectos perjudiciales en la salud del anfitrión. Por lo tanto, se podrían resumir los requisitos que debe cumplir un biomaterial desde el punto de vista orgánico como sigue:

- No aparecen influencias negativas en las estructuras biológicas circundantes.
- No hay cambios relevantes en proteínas y células.
- Inexistencia de reacciones alérgicas.
- No hay efectos teratógenos o carcinógenos en el organismo.
- Características fisicoquímicas adecuadas para la función a desempeñar.

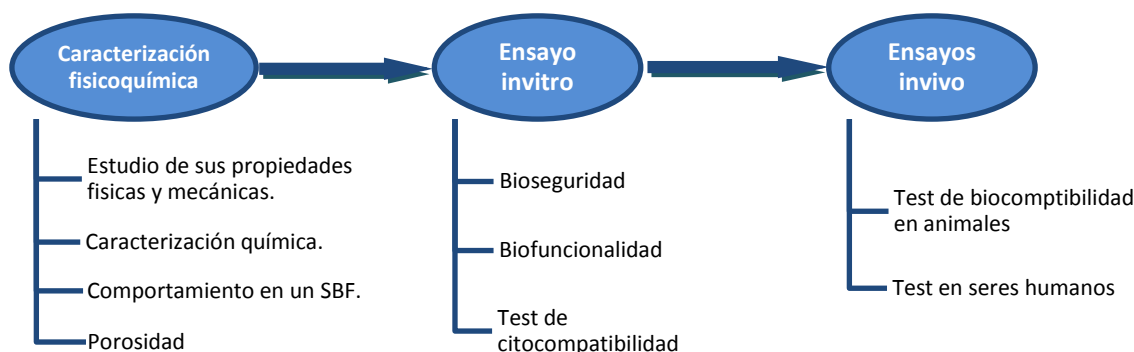
Sin embargo también hay que tener en cuenta las características que debe reunir un biomaterial desde el punto de vista técnico: [11] [13]

- Composición química adecuada.
- Resistencia mecánica suficiente.
- Buenas características a fatiga.
- Porosidad y tamaño de poros adecuados para facilitar la osteointegración.
- Excelente resistencia a la corrosión en el entorno fisiológico.
- Modulo de dureza y elástico lo más similar al del hueso.
- Alta resistencia al desgaste.

Según los requisitos vistos se concluye que la biocompatibilidad se ve influida por una serie de factores; desde el punto de vista del material se encuentran el químico, mecánico, eléctrico y propiedades específicas de la superficie del implante, etc.; desde el punto de vista del paciente se encuentran, entre otros, su condición sistémica, los mecanismos biológicos y moleculares que subyacen a la técnica, etc, y finalmente desde el punto de vista de la técnica las condiciones de asepsia, la técnica utilizada y la pericia del cirujano. El problema que existe es que algunos de los factores que intervienen en la biocompatibilidad y en el proceso de implantación son desconocidos o no se tiene una perfecta comprensión de ellos, además algunos son incontrolables y muchas veces irrepetibles lo cual es fuente de graves problemas. [10]

En resumen, para obtener un biomaterial óptimo es necesario conseguir que este se mimetice con el anfitrión para obtener una completa aceptación y una integración satisfactoria. [11]

El estudio de los biomateriales sigue generalmente el esquema de la Figura 1-4



**Figura 1-4** Esquema análisis de la funcionalidad y la biocompatibilidad de los materiales.

Observando el diagrama anterior se puede apreciar la complejidad y duración del estudio de un biomaterial para su utilización con fines médicos y hacerse una idea los altos costes que conlleva. Este proyecto se centrará en la fase previa a los ensayos invitro aunque también se realizará una serie de ensayos con la intención de predecir su comportamiento en los seres humanos.

En el campo de los implantes existen básicamente dos estrategias para la fijación: *prótesis cementadas*, su uso está especialmente indicado para pacientes ancianos cuya regeneración ósea es deficiente y *prótesis no cementadas*, dentro de las cuales se encuentra la regeneración ósea guiada que es actualmente una de las técnicas más investigadas y con mayor auge. Dentro de la última técnica citada anteriormente existen diferentes métodos que se pueden usar para conseguir la reparación del defecto óseo, estas son: [14]

- Autoinjerto o injerto de hueso autólogo: El tejido óseo proviene del propio paciente.
- Aloinjerto o injertos alogénicos: El hueso proviene de donantes normalmente muertos con los consecuentes rechazos que provocan esta última alternativa y el sofisticado tratamiento que hay que dar al hueso para su implantación.
- Heteroinjerto: El donante y receptor no pertenecen a la misma especie que suele dar buenos resultados.
- Injerto aloplástico o sintéticos: Son materiales artificiales que simulan a los naturales.

Sin embargo, cualquiera que sea la técnica utilizada es imprescindible tener los conocimientos de los mecanismos biológicos y moleculares que rigen la reparación del tejido, en qué casos es indicada cada una, los materiales que se pueden utilizar según la zona del defecto óseo y las técnicas quirúrgicas necesarias para el éxito del implante.



A continuación se explicaran brevemente los tres fenómenos naturales básicos que pueden darse durante la formación de hueso y que los biomateriales tratan de acelerar y promover en el proceso de implantación e integración de una prótesis [15], [16]:

- Osteogénesis: es el crecimiento o reparación de hueso debido a la actividad de los osteoblastos que son generados por el propio injerto. Resulta prácticamente exclusivo de los autoinjertos y es especialmente importante en los injertos córtico-esponjosos debido a la rápida revascularización.
- Osteoconducción: es el proceso por el cual el material inorgánico implantado, permanente o reabsorbible, ofrece una matriz o andamio (scaffold) para el crecimiento de células óseas progenitoras desde los márgenes del defecto. Así, un material osteoconductor puro no forma hueso de forma intrínseca ni su osificación es endocondral y la formación de hueso siempre comienza en la periferia.
- Osteoinducción: Este término se refiere a la transformación de células mesenquimales indiferenciadas en células osteogénicas en presencia de moléculas reguladoras del metabolismo óseo, por ejemplo BMP (Bone Morphogenetic Proteins). Dicho de otra manera es la capacidad que tienen algunos materiales de liberar determinadas sustancias que inducen el crecimiento de hueso por un mecanismo endocondral en zonas alejadas del lecho receptor. Esta propiedad es característica de los materiales denominados bioactivos.

Si bien los conceptos explicados anteriormente explican los diferentes mecanismos de crecimiento de hueso estos no contemplan la unión entre hueso e implante y para ello se habla de oseointegración u osteointegración. Este concepto se puede definir como la unión directa entre hueso e implante sin la intervención de tejido fibroso intermedio, acuñado por primera vez por Branemark en 1969 y definida oficialmente en 1977. No obstante, estudios posteriores con equipos de mayor resolución han demostrado la existencia de una delgada capa de tejido conectivo. Modificando ligeramente la idea inicial expuesta por el científico sueco y redefiniendo dicho concepto como la unión directa funcional y estructural entre el hueso y el implante. La importancia de la osteointegración radica en que es esta la que proporciona la estabilidad del implante y la capacidad de transmitir cargas implante-hueso y viceversa. [17] [18]

Desde el punto de vista de estos mecanismos, el que mejor resultado da y propicia los tres primeros es el injerto de hueso autólogo. Los biomateriales normalmente solo promueven la osteoconducción y la osteointegración. [19]

Por último solo resta hablar de la clasificación que se puede hacer de los biomateriales en función de la interacción entre el implante y el huésped, así se tiene: [13]

- Biocompatible: Generan sustancias pero no en concentraciones tóxicas.
- Bionertes: No generan partículas tóxicas ni es identificado por el sistema inmune como un elemento extraño.
- Bioactivo: Presentan una interacción positiva con los tejidos circundantes llegando a conseguir una unión química en la intercara de ambos.
- Incompatibles: Generan una respuesta negativa por parte del huésped que provoca desde alergias hasta el rechazo del implante.

Atendiendo a los mecanismos para la formación de hueso y las respuestas del cuerpo ante los implantes los materiales más deseables son los bioactivos, si bien los bionertes y biocompatibles son también un buen resultado.

## 1.2. Titanio

Dentro de los biomateriales se utilizan diversas aleaciones metálicas, en la Tabla 1-1 se presentan las más usuales así como sus principales ventajas y desventajas.

**Tabla 1-1** Aleaciones metálicas usadas como biomateriales. [20]

	<b>Aceros Inoxidables</b>	<b>Aleaciones de Co</b>	<b>Aleaciones de Ti</b>
<b>Denominación</b>	ASTM F-138	ASTM F-75 ASTM F-799 ASTM F-1537	ASTM F-67 ASTM F-136 ASTM F-1295
<b>Principales elementos aleantes</b>	Fe, Cr, Ni y Mo	Co, Cr, Mo y Ni	Ti, Al, V y Nb
<b>Principales usos</b>	Uso temporal	Uso para prótesis y en piezas odontológicas	Uso para largo plazo, servicio permanente.
<b>Ventajas</b>	Coste, disponibilidad, procesado.	Resistencia al desgaste y a la resistencia a la tracción	Biocompatibilidad, resistencia a la corrosión, módulo mínimo, resistencia a la tracción
<b>Desventajas</b>	Comportamiento a largo plazo, alto módulo de elasticidad.	Biocompatibilidad, alto módulo de elasticidad.	Resistencia al desgaste, baja fuerza de cizallamiento, ratio alto con el módulo de elasticidad del hueso, bioinerte.

Como se desprende de la tabla anterior el Ti y sus aleaciones son de las mejores alternativas de cara a su uso a largo plazo, cualidad que resulta muy importante puesto que es un requisito deseable para una prótesis que no sea



necesario su reemplazo por deterioro cada poco tiempo. Además reúne una serie de ventajas que son interesantes, como su resistencia a la corrosión o su biocompatibilidad. Sin embargo son sus desventajas las que obligan a seguir buscando mejoras que las solucionen, en concreto como más adelante se explicará en este proyecto interesa el ratio  $E_{Ti}/E_{Hueso}$  y la el carácter bioinerte del Ti.

### 1.2.1. Historia del titanio

El titanio es un elemento químico, en concreto se trata de un metal de transición de color gris plata, cuyo símbolo es Ti y número atómico el 22. En cuanto a propiedades mecánicas compite con el acero, sin embargo con un ratio 4.5/7.8 (Ti/Acero) es mucho más ligero. Además cuenta con una alta resistencia a corrosión y gran resistencia mecánica pero su obtención es mucho más costosa y esto complica su uso a nivel industrial debido, entre otros, a su alta reactividad. A pesar de ser el 9º elemento más abundante en la corteza terrestre no se suele encontrar en las concentraciones adecuadas para hacer viable su extracción. Los minerales más importantes de los que se puede extraer el titanio (Ti) son el dióxido de titanio ( $TiO_2$ ) también conocido por el nombre de rutilo y de la ilmenita ( $FeTiO_3$ ). [21]

Este metal fue descubierto casualmente por William Gregor en Inglaterra en el 1791 cuando estudiaba un metal gris plata que había descubierto. Pero no es hasta el 1795 cuando Martin Kalprotz, químico alemán descubridor del uranio, le da el nombre de Ti. [22] En los años siguientes diversos científicos intentaron obtener muestras de Ti puro llegando a conseguir purezas del 99.9% (Hunter, 1910). Sin embargo los métodos de obtención no eran económicamente interesantes y hay que esperar hasta 1937 cuando William Kroll encuentra un nuevo proceso, denominado método de Kroll, que resulta comercialmente interesante. Es a partir de 1946 cuando tras su perfeccionamiento se comienza a popularizar su uso, que se extiende hasta hoy en día. El método de Kroll consiste en la reducción del  $TiCl_4$  con magnesio molido, en una atmósfera inerte (con Argón o Helio) para evitar la reacción con cualquier otro elemento, como por ejemplo el oxígeno. [23] [24] [25] [26] [27]

El uso del Ti como biomaterial comienza en la década de los 60 del siglo pasado, cuando Branemark descubre casi por casualidad sus propiedades de biocompatibilidad y osteointegración en un experimento para estudiar la microcirculación sanguínea de la médula ósea. [2] [28]



**Figura 1-5** Piedras conseguidas por el proceso de extracción y purificación del Ti.

A día de hoy es la industria aeroespacial, química y las aplicaciones médicas donde el Ti tiene una mayor utilización. Dentro del campo de los biomateriales su uso se ha generalizado debido a la buena tolerancia que muestran los tejidos del organismo a su presencia. Además no hay que olvidar sus buenas propiedades mecánicas que lo hacen idóneo para soportar los esfuerzos a los que se pueden ver sometidas los implantes o prótesis, así como su excelente resistencia a corrosión que las protege de la agresividad del medio. [29]

### 1.2.2. Características del Ti y sus aleaciones

Como ya se ha comentado el Ti posee una elevada reactividad que dificulta la obtención del metal puro, por lo que en la práctica se trabaja con lo que se conoce como Ti comercialmente puro (c.p.). La normativa F67 de la American Society for Testing and Materials (ASTM) establece cuatro grupos para aplicaciones biomédicas según el contenido de impurezas, en los que varían el contenido de Fe y O (Tabla 1-2).

**Tabla 1-2** Clasificación Ti según norma ASTM F67

Composición (%masa)						
Impureza	N	C	H	Fe	O	Ti
<b>Grado 1</b>	0.03	0.1	0.0125	0.2	0.18	Balance
<b>Grado 2</b>	0.03	0.1	0.0125	0.3	0.25	Balance
<b>Grado 3</b>	0.03	0.1	0.0125	0.3	0.35	Balance
<b>Grado 4</b>	0.03	0.1	0.0125	0.5	0.4	Balance

Según aumenta la cantidad de elementos intersticiales aumenta su resistencia mecánica y su grado, como puede apreciarse en la Tabla 1-3. Además su módulo de elasticidad (E), en torno a 110 GPa [30], es la mitad del de los aceros

inoxidables o aleaciones de cobalto lo que explica que el Ti sea más compatible elásticamente con el hueso ( $E_{\text{Hueso}} = 10\text{-}30 \text{ GPa}$ ) [30].

**Tabla 1-3** Propiedades mecánicas de los diferentes grados del Ti cp. Según norma ASTM F67

Grado	Resistencia máxima [MPa]	Límite elástico 0,2% min. [MPa]	Elongación min [%]
1	240	170	24
2	345	275	20
3	450	380	18
4	550	483	15

Entre sus propiedades físicas (Tabla 1-4 ) cabe destacar su bajo coeficiente de expansión térmica, el cual favorece la correcta fijación de los implantes evitando posibles holguras futuras. También presenta una elevada reactividad con el oxígeno, el nitrógeno, el hidrogeno y el carbono que depende fuertemente de la temperatura, que se vuelve extrema solo a altas temperaturas, a más de 700°C, lo cual garantiza la ausencia de este problema en el funcionamiento normal de las prótesis y queda relegado a un problema a tener en cuenta solo durante la fabricación de los implantes y al mismo tiempo permite al Ti estar protegido por una capa superficial de óxido (5-10 nm). [26] [31] [32]

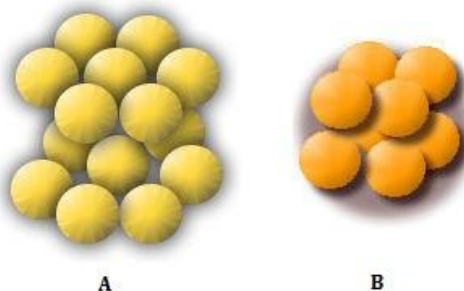
**Tabla 1-4** Características físicas del Ti

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL Ti	
Estructura cristalina	$\alpha$ (HCP) a $T < 1155 \text{ K}$ $\beta$ (BCC) a $T > 1155 \text{ K}$
Densidad ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	fase $\alpha$ (20°C): 4.51 fase $\beta$ (885°C): 4.35
Temperatura de fusión (K)	1948
Coeficiente de expansión térmica ( $\times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ ) (0-100°C)	8.9
Conductividad eléctrica (con respecto al Cu)	0.031
Susceptibilidad magnética (K)	$1,25 \times 10^{-6}$

La bibliografía así como diversos estudios, clasifican el Ti c.p. como un material bioinerte y biocompatible que posee una gran capacidad osteointegradora y osteoconductora. Sin embargo debido a las dificultades que presenta su

manipulación y a la elevada diferencia entre su E y el del hueso también se usan otras aleaciones, como el Ti6Al4V. [23] [30] [31]

El Ti es un elemento que presenta alotropía, ya que a bajas temperaturas los átomos se empaquetan en una estructura hexagonal compacta o hcp comúnmente conocida como  $\alpha$  (Figura 1-6) y a temperaturas superiores a los 1155K (882°C) se transforma en una estructura cúbica centrada en el cuerpo o bcc también conocida como  $\beta$  (Figura 1-6). Siendo esta segunda estructura inestable a temperaturas menores de 1155K, descomponiéndose de nuevo a fase  $\alpha$  por debajo de la temperatura de transición. Tanto las impurezas inherentes del Ti, oxígeno e hidrógeno, como la presencia de otros elementos aleantes modifican la temperatura de transición, estabilizando así una fase u otra. [13] [23]



**Figura 1-6** A) Fase  $\alpha$ . Estructura hcp B) Fase  $\beta$ . Estructura bcc

Según la capacidad de los aleantes para estabilizar una fase u otra se pueden distinguir tres grupos: aleaciones tipo  $\alpha$ , aleaciones tipo  $\alpha+\beta$  y aleaciones tipo  $\beta$ . Así por ejemplo el ASTM F67 o Ti comercialmente puro (c.p.) se clasifica dentro del grupo tipo  $\alpha$  y las aleaciones ASTM F136 y 1295 (Ti6Al4V y Ti6Al7Nb) se encuentran dentro del tipo  $\alpha+\beta$ .

Los elementos alfégenos aumentan la temperatura de transición  $\alpha-\beta$  con lo que se consigue incrementar la temperatura a la que la fase  $\alpha$  es estable, lo que produce que este tipo de aleaciones resulten no ser sensibles a los tratamientos térmicos por lo que se deben tratar mediante una combinación de trabajo en frío y enfriamiento controlado para modificar sus propiedades.

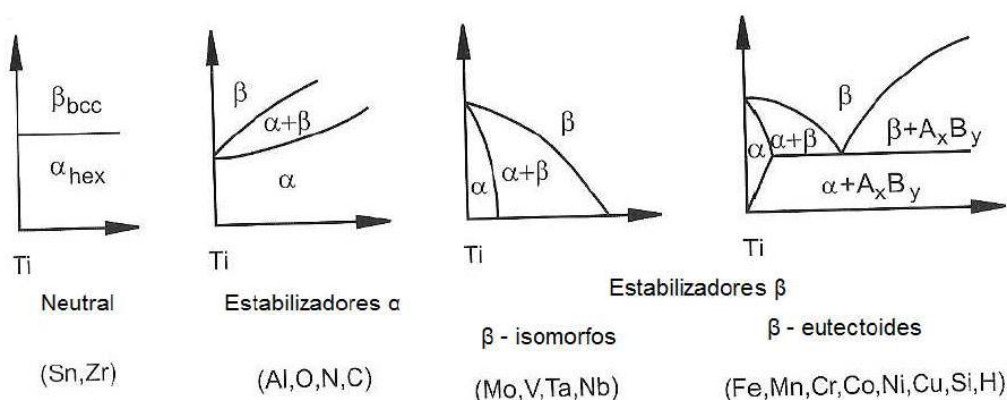
El otro grupo de estabilizadores, los betágenos, se puede dividir en dos grupos los  $\beta$ -isomorfos y los  $\beta$ -eutectoides, de este modo al igual que el otro grupo de aleantes lo que se consigue es que la fase  $\beta$  sea estable a temperaturas menores que la  $\beta$ -transus. Estas aleaciones se caracterizan por tener una buena tenacidad a fractura y elevada resistencia a tracción, además se procesan muy bien por conformación por deformación plástica lo que permite deformarlas en frío mucho mejor que las aleaciones  $\alpha$  o  $\alpha+\beta$ . Desde el punto de vista de la biocompatibilidad posee un bajo E, mucho menor que el de los otros tipos y también hay que añadir que los estabilizadores Mo, Nb y Ta resultan muy biocompatibles incluso más que el Al o el Sn. [20] [33]

**Tabla 1-5** Elementos estabilizadores de las fases del Ti

Elementos $\alpha$ -estabilizadores	Elementos neutros	Elementos $\beta$ -estabilizadores	
		$\beta$ - isomorfos	$\beta$ -eutectoides
Al, Ga, O, C, N	Zr, Sn, Si	Mo, W, V, Ta, Nb	Cu, Mn, Mg, Cr, Fe, Co, Ni, H

Por último, existe otro tipo de estructura llamado aleación casi- $\alpha$  que puede ser considerado como otro grupo o una subcategoría de las aleaciones  $\alpha$ . Este tipo contiene en su mayoría una estructura  $\alpha$  pero también una pequeña cantidad de  $\beta$ -estabilizadores (1-2%) que mejoran sus características de dureza y fabricación en caliente. [34]

En la figura siguiente se puede observar el efecto de los elementos aleantes explicados anteriormente:



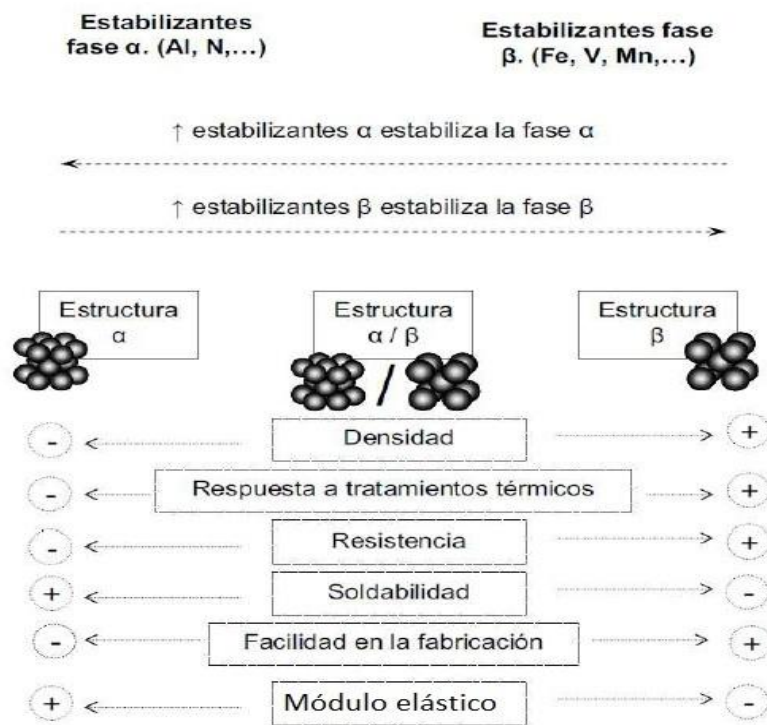
**Figura 1-7** Diagramas de equilibrio del Ti con diferentes elementos estabilizadores. [23]

Una de las características que determina las propiedades de las aleaciones es la composición química que a su vez determina la fracción de volumen de las fases  $\alpha$  y  $\beta$ . Los elementos estabilizadores de la fase  $\alpha$  y los elementos neutros elevan la resistencia del Ti a costa de aumentar su fragilidad y los alfégenos proporcionan frente a los betágenos un mejor comportamiento frente a la oxidación, además de una menor plasticidad y un mejor comportamiento a la fluencia. A modo de resumen la Figura 1-8 presenta la variación de algunas propiedades en función del tipo de estructura. Las aleaciones  $\alpha+\beta$  no se han descrito puesto que son una mezcla de las dos descritas anteriormente por lo que poseen propiedades intermedias entre la estructura  $\alpha$  y  $\beta$ .

Finalmente en cuanto a las técnicas utilizadas para obtener piezas de Ti o sus aleaciones se encuentran la fundición, el forjado, el moldeo y la pulvimetalurgia. Entre ellas destaca la última debido a las siguientes razones:

- Disminución en hasta un 50% de los costes de fabricación.
- Disminución del material desechado sobre todo en piezas complejas.
- Obtención de propiedades mecánicas cercanas al de las piezas obtenidas por forja, en fatiga se llegan a alcanzar valores que duplican a la de las piezas moldeadas.
- Las propiedades del material no presentan anisotropía.

Dentro de la pulvimetalurgia existen diferentes métodos para la obtención del polvo del Ti, entre ellos uno de los más utilizados es el proceso químico de hidruración-deshidruración. Así el polvo obtenido presenta unas buenas aptitudes para su compactación en frío y la densificación en el sinterizado. [20] [35]



**Figura 1-8** Resumen del efecto de los aleantes en las propiedades del Ti. [13] [20]

### 1.2.3. El Ti y sus aleaciones como biomaterial

Una de las ventajas que tiene el Ti c.p. es su baja densidad,  $4.5 \text{ g/cm}^3$ , comparada con los  $7.9 \text{ g/cm}^3$  del acero inoxidable y los  $8.9 \text{ g/cm}^3$  y  $9.2 \text{ g/cm}^3$  de las aleaciones CoCrMo y CoNiCrMo respectivamente. Otras ventajas son su bajo E comparado con el de las aleaciones anteriores, su gran resistencia a la corrosión y su carácter bionerte así como su capacidad osteointegradora. Sin embargo, a pesar de estas buenas propiedades, que suelen dar un resultado aceptable, siguen sin ser óptimas como por ejemplo la diferencia entre el módulo de elasticidad del Ti ( $E \approx 110 \text{ GPa}$ ) y el del hueso ( $E = 10\text{-}30 \text{ GPa}$ ). Dicha diferencia sigue siendo muy alta



para transmitir de manera adecuada las cargas y fomentar así el crecimiento del hueso evitando posibles debilitamientos de la unión hueso-implante y el consecuente aflojamiento por una eventual reabsorción de tejido óseo. Otra característica muy importante a conseguir es la respuesta bioactiva por parte del huésped. [36] Y por último hay que añadir las dificultades que presenta la fabricación de elementos de Ti c.p. y sus aleaciones, sobre todo las tipo  $\alpha$  y  $\alpha+\beta$ , con el consecuente coste que esto conlleva. [20]

En la Figura 1-9 se presenta el E del hueso y de varios biomateriales que se agrupan según los tipos de aleación y los aleantes usados, en ella se pueden apreciar las grandes diferencias existentes que anteriormente se han citado.

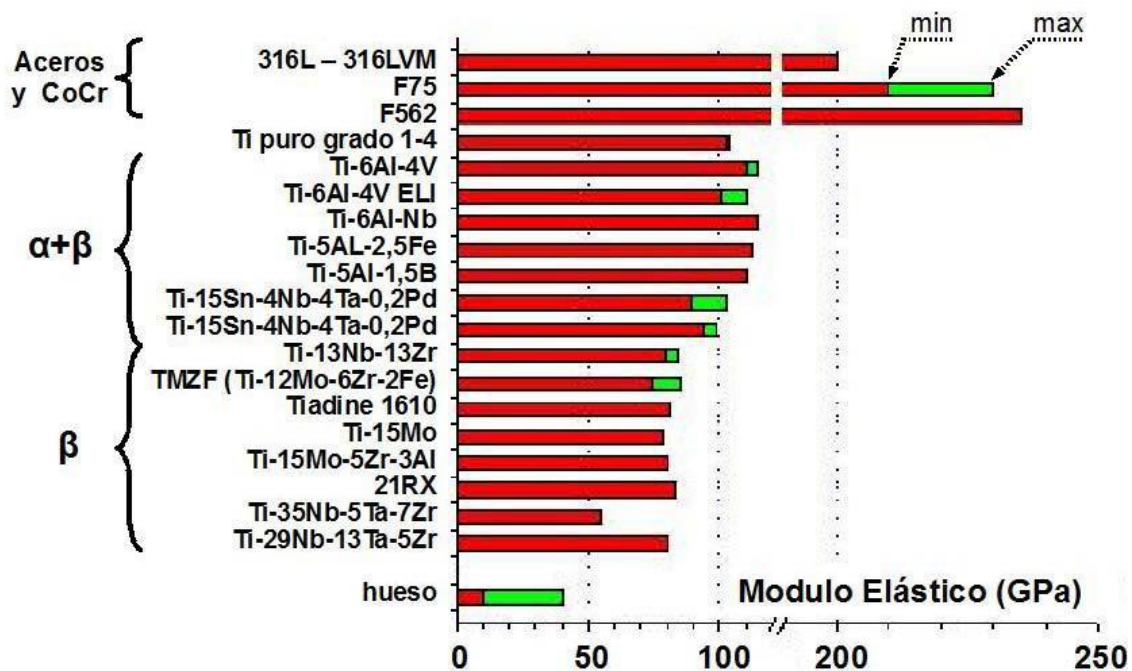


Figura 1-9 Comparación de módulo de Young para distintas biomateriales [23]

Con el fin de mejorar la biocompatibilidad de los implantes de Ti a corto y largo plazo se han desarrollados diferentes técnicas y materiales, entre ellas se encuentran las siguientes:

- Sustitución de V, Al, Cr, Co con Nb, Ta y Zr. Los dos primeros son usados en una de las aleaciones más comunes de Ti, Ti6Al4V, que sin embargo presentan signos de toxicidad a largo plazo por la liberación de iones metálicos. Lo cual da lugar a algunas enfermedades como la osteomalacia o Alzheimer. Esto ha motivado la búsqueda de alternativas como las aleaciones de Ti tipo  $\beta$ , que resultan ser una buena alternativa ya que sus módulos de elasticidad se encuentran entre los más bajos de las aleaciones de Ti. Además reúnen unas buenas propiedades para la fabricación de los implantes

como puede ser su aptitud de deformación en frío y no presentan problemas de toxicidad. [37]

- Procesamiento de una capa porosa externa sobre el implante metálico, con lo que se espera la facilitar la incorporación de iones minerales para mejorar la resistencia electroquímica de corrosión por encima del potencial relativo para las condiciones del implante. Cabe mencionar que el Ti también puede dar lugar a la aparición de infecciones y el consecuente rechazo del implante debido a los productos de corrosión que aparecen cuando pierde su capa protectora de óxido. [38]
- Obtención de una capa pasiva en la superficie externa del implante para reducir el desgaste. Por ejemplo, la pasivación por ácido nítrico incrementa la película pasiva de  $TiO_2$  (el cual es un lubricante natural) que normalmente se forma en el Ti c.p. y la aleación Ti6Al4V. [39]
- Obtención de estructuras superficiales más porosas y/o rugosas para favorecer la osteointegración mediante el fenómeno de osteoconducción sin deteriorar las buenas características de resistencia a la corrosión, así mismo la porosidad permite controlar el E y aproximarlos mucho al del hueso. Para conseguir esto existen diversas técnicas de procesamiento como la pulvimetalurgia, conformado por electro-descarga, pulverización por plasma, o técnicas de prototipado rápido. [40]

Es importante resaltar el hecho que mucha de las técnicas, incluidas las aquí citadas, tratan principalmente de reducir el E o de modificar la composición, estructura y/o morfología de la superficie. Sin embargo, lo que no consiguen es convertir el Ti o sus aleaciones en un biomaterial activo, ya que el problema de su carácter bioinerte reside en la capa protectora de óxido. La cual impide la conexión química con el tejido óseo así como la inducción del crecimiento de hueso y no es suficiente con lo hasta ahora contado.

En los siguientes apartados se explicará una de las soluciones adoptadas para tratar de obtener biomateriales activos basados en Ti. Sin embargo, es importante mencionar que las diferencias en las propiedades mecánicas, entre el hueso y los implantes de Ti y sus aleaciones, es una de las principales desventajas que presentan.



### 1.3. HAp

#### 1.3.1. Historia de la HAp

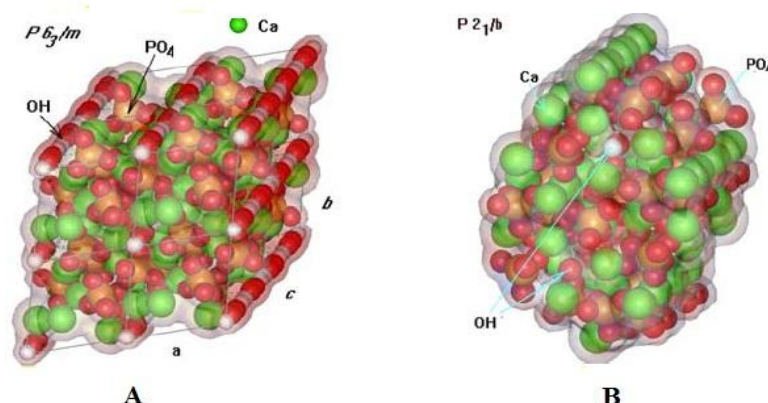
El término apatita fue acuñado por primera vez por Werner en 1788 y actualmente se utiliza para nombrar los sólidos cristalinos con una fórmula estequiométrica  $M_{10}(RO_4)_6X_2$ , donde M es un catión  $Ca^{2+}$ , R es un catión  $P^{5+}$  y la X corresponde a un grupo hidroxilo o a un anión halógeno como por ejemplo el fluoruro. La primera utilización de las apatitas, en concreto fosfato de calcio en forma de polvo, para acelerar la formación de tejido óseo en fracturas fue en 1920 por Albee y Morrison. Más tarde, a finales de los 60, el interés por el uso de las apatitas para aplicaciones ortopédicas y dentales creció debido a las similitudes que presentaban estas con el tejido óseo y las piezas dentales. En 1981 comienza el uso de la hidroxiapatita, de ahora en adelante HAp, en forma de gránulos para aplicaciones de cirugía maxilofacial.

A pesar de que el hueso humano presenta diferentes composiciones según la función que tenga, la edad de la persona, las enfermedades, etc, en términos generales se puede decir que la fase orgánica representa el 20-35% del hueso, la fase inorgánica o mineral se encuentra en el rango del 60-70% y el resto es agua. Gracias al desarrollo de la tecnología de difracción de rayos X se ha podido corroborar que la fase inorgánica del hueso es una apatita, constituida por varios fosfatos de calcio. Se considera que un 65% de esta fase está constituida por HAp cuya fórmula es  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  y el ratio Ca/P es 1.67, pero no toda en su fórmula estequiométrica exacta. Es sabido que la HAp en la naturaleza tiende a no mantener la estequiometría y presentarse con diferentes substituciones. Por ejemplo, en el esmalte de los dientes humanos se ha averiguado por medio de la combinación de análisis químicos y técnicas de rayos X que la apatita que los constituye es una forma impura donde grupos carbonato o algún halógeno, como el fluoruro o el cloruro, pueden sustituir algún grupo fosfato o hidroxilo respectivamente. [3]

#### 1.3.2. Características de la HAp

A la HAp se le atribuye dos tipos de estructuras cristalinas, hexagonal y monoclínica (Figura 1-10), presentando algunas diferencias importantes en propiedades físico-químicas, y siendo la segunda la última en descubrirse. Además a pesar de ser la estructura monoclínica la fase más estable termodinámicamente y estar presente en los tejidos duros no se le ha prestado mucha atención a su formación en condiciones normales ya que hasta hace poco solo se sabía obtener por procesos a muy alta temperatura. No obstante debido a la gran cantidad de impurezas que existen en el entorno fisiológico humano y para la mayoría de los

trabajos del ámbito de los biomateriales se asume que se encuentra en la estructura hexagonal. [41] [42]



**Figura 1-10** Red cristalina de la HAp a) Hexagonal b) monoclinica

Dado que la configuración hexagonal es la más común se describirá brevemente su estructura; no obstante en la Tabla 1-6 se dan los parámetros de red para las dos configuraciones con el fin de comparar las diferencias mínimas que existen entre ellas. La estructura hexagonal se puede considerar una matriz de aniones fosfato ( $PO_4^{-3}$ ) donde 6 iones  $Ca^{2+}$  forman dos triángulos equiláteros centrados en el eje de rotación helicoidal, a la misma altura que el P de los grupos fosfato, y los otros 4, apilados de dos en dos, forman los planos verticales en medio de la celda. Finalmente los grupos hidroxilo ( $OH^-$ ) están colocados en los huecos de los triángulos equiláteros. [3]

**Tabla 1-6** Parámetros de red de la estructura hexagonal y monoclinica [43]

Parámetros de red de la HAp			
Estructura cristalina	a	b	c
P 6 <sub>3</sub> /m	~9.4	~9.4	~6.8
P 2 <sub>1</sub> /b	~9.5	~19	~6.8

En la Tabla 1-7 se presenta un resumen de las propiedades físicas y mecánicas de la hidroxiapatita. Cabe destacar el valor tan diferente que presenta frente al Ti su coeficiente de expansión que será fuente de algunos problemas que se explicaran en el apartado 1.4, así como su baja resistencia a tracción, 120 MPa, frente a la del hueso, 300 MPa. [3] [43]

**Tabla 1-7** Resumen de propiedades físicas y mecánicas de la HAp hexagonal

Propiedad	Valor
Densidad ( $g/cm^3$ )	3.15
Módulo de Young (GPa)	40-100
Dureza de Knoop (MPa)	3450
Resistencia a la tracción (MPa)	120
Resistencia a la compresión (MPa)	430
Coefficiente de expansión térmica ( $\times 10^{-6} K^{-1}$ )	11,6
Punto de fusión (K)	1933

Los métodos existentes de obtención para la HAp son los siguientes: [41]

- Métodos por precipitación: Este método suele dar un producto deficiente en Ca, solo en el caso de que se lleve a cabo en un medio fuertemente básico se puede obtener una HAp estequiométrica, relación molar Ca/P=1.67.
- Hidrólisis a partir de fosfatos de calcio.
- Reacciones en estado sólido: La HAp obtenida de esta forma se caracteriza por su alta cristalinidad, estequiometría regulable y baja solubilidad.
- Reacciones hidrotermales: Se basa en algunas de las reacciones de la técnica anterior pero con una  $T=275\text{ }^{\circ}\text{C}$  y una presión de 280 atm, se obtiene HAp parcialmente sustituida por iones  $CO_4^{-3}$  sustituyendo iones tanto  $PO_4^{-3}$  como  $OH^{-}$ .
- Procesos sol-gel: Este proceso presenta la ventaja de una alta homogeneidad y pureza del producto así como menores temperaturas de síntesis.

Finalmente en cuanto a su comportamiento biológico presenta muy buenas características de osteoconducción, que se ve favorecida según aumenta la porosidad de la HAp a costa de disminuir su resistencia mecánica y tenacidad. Además tiene la capacidad de conseguir la formación de hueso nuevo sobre la superficie del implante consiguiendo la unión físico-química con el hueso, todo esto es lo que lo convierte en un material bioactivo. [41] [44] [45]

### **1.3.3. Aplicaciones de la HAp en biomateriales**

La HAp pertenece a la categoría de las biocerámicas. Este tipo de materiales empezaron a usarse en los implantes en la década de los setenta, sin embargo la HAp se comienza a utilizar un poco más tarde, en 1982. El motivo de su introducción en el campo de los biomateriales se debe a los fracasos obtenidos con los materiales utilizados hasta ese momento, acero, aleaciones de cobalto, polimetilmetacrilato, etc. [46]

El uso en solitario de la HAp está limitado a áreas que soporten pequeñas cargas debido a su baja resistencia a la fractura y su fragilidad. Para salvar estas desventajas y poder aprovechar sus mejores características se ha llegado a diversas soluciones entre las que están los recubrimientos de los implantes metálicos o la fabricación de composites HAp/metal, siendo los primeros los más usuales actualmente. Otra ventaja adicional es la creación de una barrera física contra la emisión de iones metálicos. Las soluciones aquí mencionadas se explicarán en el apartado siguiente, 1.4. [47]

### **1.4. Biomateriales de Ti+HAp**

Como ya se ha mencionado antes tanto el Ti como la HAp poseen algunas buenas propiedades que los hacen muy interesantes como biomateriales; sin embargo también tienen otras que limitan su uso, como pueden ser las propiedades mecánicas o sus biocaracterísticas. De esta forma lo ideal sería combinar estos dos materiales para aprovechar sus mejores características y al mismo tiempo subsanar sus deficiencias.

Tras la revisión bibliográfica realizada se ha observado que actualmente existen muchas técnicas para la fabricación de implantes artificiales. No obstante, dentro del campo de los implantes de huesos se ha notado que la tendencia existente en este momento se puede clasificar en los dos siguientes grupos:

- Recubrimientos de los implantes metálicos con finas películas de biocerámicos que mejoran sus características, actualmente este es el método más extendido y testado médicamente.
- Materiales compuestos por un metal bioinerte y un cerámico con propiedades bioactivas, de esta forma se solucionan algunos problemas que se presentan en el grupo anterior, luego se explicaran brevemente cuales son, y permite elegir las características mecánicas del material. Además se pueden obtener formas más complejas y reducir costes.

El uso de la HAp ha demostrado claras ventajas frente a los biomateriales tradicionales, como puede ser la mejor fijación del hueso al implante o la necesidad

de menos revisiones después de la intervención quirúrgica. No obstante, su uso sigue siendo mínimo debido al coste que presentan los implantes con esta biocerámica y a la preferencia de los cirujanos por los materiales tradicionales. Además a estos hechos hay que añadir que los materiales tradicionales, sin biocerámicas, llevan más de 50 años utilizándose con una tasa de éxito del 85% frente a los 20 años que se lleva utilizando la HAp con una tasa de éxito del 55%. Aunque estos datos no favorecen a los biomateriales más innovadores resulta importante destacar la gran diferencia de conocimientos existente entre los dos tipos de materiales. Asimismo cabe mencionar que en los últimos años las tasas de éxito clínico que más ha subido es la de los materiales con biocerámicas. [46]

Aunque el objeto de este proyecto son los biocomposites de matriz de HAp y refuerzo de Ti, resulta interesante hacer un breve repaso sobre algunas de las técnicas de recubrimientos más utilizadas para explicar cuáles son las limitaciones que presentan y las razones de explorar otras técnicas.

#### **1.4.1. Recubrimientos de HAp sobre Ti en biomateriales**

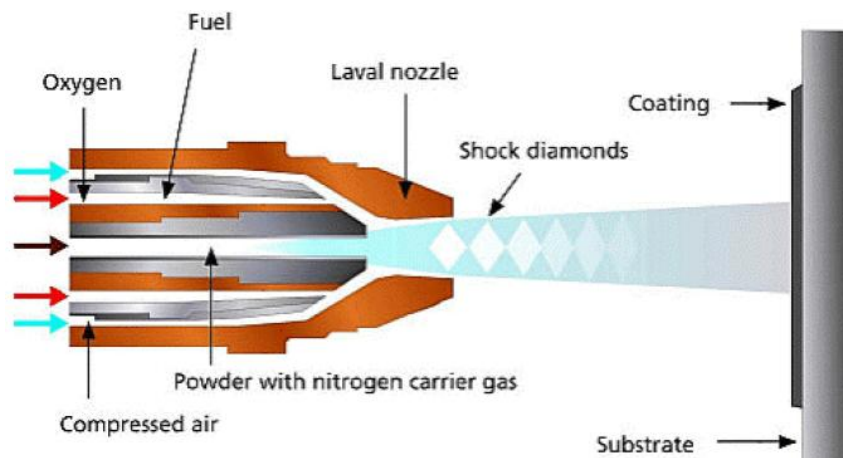
Como ya se ha explicado, las técnicas de recubrimientos son una de las soluciones adoptadas para combinar las buenas propiedades que tienen los componentes que conforman un biomaterial y reducir al mismo tiempo las deficiencias que tienen cada uno por separado.

Un ejemplo de los problemas que se pueden encontrar ya ha sido mencionado en el apartado 1.2.3, en el cual se indicaba que inicialmente se utilizaban implantes metálicos con algunos aleantes que podían llegar a provocar enfermedades graves. A pesar de que estos problemas se han logrado solucionar con técnicas clásicas, como el cambio de los aleantes usados, los materiales tradicionales siguen presentando ciertas limitaciones en su uso. De este modo la combinación que se ha demostrado más efectiva consiguiendo una baja citotoxicidad in-vitro y reacción inflamatoria son los recubrimientos de HAp sobre implantes metálicos de Ti. [48]

El recubrimiento de un metal con HAp es un proceso complejo del que en gran parte depende el posterior éxito o fracaso del implante. Esto se debe a que la calidad y la adherencia entre el sustrato y el recubrimiento dependen, entre otros, de su naturaleza, la pureza, la composición química y el espesor. A lo largo de los años se han desarrollado diversas técnicas para la deposición de la HAp sobre un sustrato metálico. Los resultados clínicos de los últimos 15 años han demostrado en general la utilidad de los recubrimientos de HAp en la fijación precoz del implante; sin embargo aún no se dispone de información sobre la fijación a largo plazo sobre todo en pacientes jóvenes. [48] [49]

Tal y como se ha dicho anteriormente existen un sinnúmero de técnicas de recubrimientos, por lo que aquí solo se hablarán de las más extendidas. No obstante en la Tabla 1-8 se presentan diversas técnicas que se encuentran entre las más utilizadas con sus ventajas y desventajas.

Las técnicas más extendidas son las de proyección por plasma en vacío (VPS), atmosférico (APS) o de alta velocidad (HVOF), que pertenecen al grupo de las técnicas de proyección térmica. Dichas técnicas permiten recubrir todo tipo de geometrías y grandes superficies, siendo un proceso rápido y económico. Su principio de funcionamiento es sencillo, se basa en proporcionar al material de recubrimiento la energía térmica suficiente para luego proyectarlo sobre el sustrato metálico con una gran energía cinética y que al entrar en contacto con este se forme un recubrimiento compacto por agregación de las partículas proyectadas. La APS y HVOF son dos de las técnicas más novedosas dentro su grupo. Sin embargo, la primera debido a las altas temperaturas producidas durante la proyección da lugar a una fase amorfa de la HAp, que resulta ser del todo indeseable ya que perjudica la respuesta biológica y la integridad del recubrimiento. La solución a estos problemas se encuentra en la técnica HVOF con la que se consigue minimizar el intercambio térmico y maximizar la cinética. Así se obtienen recubrimientos realmente densos, con baja porosidad y alta adherencia al sustrato. Esto es debido a que la HAp depositada mantiene su estructura cristalina durante prácticamente todo el proceso, tan solo contiene un 20% de fase amorfa al final de la operación. No obstante hay un problema que no se ha llegado a solucionar, este es la reabsorción del recubrimiento y la pérdida substancial del espesor del mismo al cabo de 3 a 4 meses tras la implantación. [47] [41] [50].



**Figura 1-11** Proyección térmica por Alta Velocidad [3]

También existe un par de problemas generalizados con las técnicas de recubrimiento que están íntimamente relacionados entre sí, el primero se trata de la baja adherencia ( $14.2 \pm 3.1$  MPa) que existe entre la HAp y el Ti. El otro problema es el de las grandes diferencias que existe entre los coeficientes de



expansión térmica entre el Ti y la HAp; que da lugar a la aparición de tensiones residuales provocando la aparición de grietas y la reducción de la adherencia entre el recubrimiento y el sustrato metálico, ya de por sí baja, pudiendo llegar a provocar el rechazo del implante. No obstante existen algunas técnicas, como la HVOF o la ablación láser, que consiguen adherencias algo superiores a la media. [51]

Por último, en relación a las técnicas de recubrimiento cabe mencionar que con el fin de mejorar las propiedades mecánicas, la bioactividad y la no-toxicidad de los implantes se ha interpuesto una capa entre el recubrimiento y el sustrato metálico de TiO<sub>2</sub>. Esto se lleva a cabo por deposición electroforética, que además mejora la adhesión de la HAp hasta los 46.7 MPa. Este gran aumento de la adherencia se debe a la unión mecánica con la topografía rugosa de la capa intermedia y con la combinación de la unión por difusión en la interfase TiO<sub>2</sub>-HAp. Así mismo se obtiene también una buena resistencia a la corrosión y biocompatibilidad. [52] [53].

**Tabla 1-8** Ventajas y desventajas de diferentes técnicas para depositar HAp sobre un sustrato metálico. [3]

Técnica	Espesor	Ventajas	Inconvenientes
<b>Deposición por sputtering de haz de electrones</b>	0.5-3 µm	Recubrimientos con espesores uniformes. Recubrimientos densos	Tiempos largos. Recubrimientos amorfos.
<b>Ablación Láser</b>	0.05-5 µm	Recubrimientos densos y porosos. Recubrimientos cristalinos	Técnica en desarrollo.
<b>Métodos Dinámicos De Mezclado</b>	0.05 - 1.3µm	Alta adherencia entre el recubrimiento y el sustrato	Técnica en desarrollo. Caro. Recubrimientos amorfos.
<b>Dip Coating</b>	0.05-0.5 mm	Barato Rápido Recubrir diferentes geometrías.	Altas temperaturas de sinterización. Descomposición HAp.
<b>Método Sol-Gel</b>	<1 µm	Recubrir diferentes geometrías. Temperaturas bajas. Relativamente económico, ya que los recubrimientos son finos.	Atmósferas controladas. Materias primas caras.
<b>Deposición Electroforética</b>	0.1-2.0 mm	Recubrimientos con espesores uniformes. Velocidad de deposición rápida. Recubrir diferentes geometrías.	Recubrimientos presentan fisuras. Altas temperaturas de sinterización. Descomposición HAp.

Técnica	Espesor	Ventajas	Inconvenientes
<b>Recubrimientos Biomiméticos</b>	$< 30 \mu\text{m}$	Temperaturas bajas. Formación de apatitas similares a la del hueso. Recubrir diferentes geometrías. Posible incorporación de componentes formadores de hueso.	Tiempos largos. Control de la solución SBS (pH) y continua regeneración.
<b>Prensado Isostático En Caliente (HIP)</b>	0.2-20 mm	Recubrimientos densos.	No recubrir diferentes geometrías. Elevadas temperaturas. Desajuste en expansión térmica. Diferencias en las propiedades elásticas. Caro.
<b>Proyección Térmica</b>	$50 \mu\text{m}$ -2mm	Recubrir diferentes geometrías. Relativamente económico.	Elevadas temperaturas. Descomposición HAp.

Para finalizar, resulta interesante mencionar que los requisitos mínimos de los recubrimientos de HAp se encuentran especificados en las normas ISO y ASTM, las cuales se encuentran resumidas en la Tabla 1-9. [54] [55]

**Tabla 1-9** Resumen especificaciones de recubrimientos de HAp según normas ISO, ASTM.

Propiedad	Especificación
<b>Espesor</b>	Recomendado entre 50-150 $\mu\text{m}$
<b>Cristalinidad</b>	Superior a 62 %
<b>Pureza</b>	Superior al 95 %
<b>Relación Ca/P</b>	1.67-1.76
<b>Densidad</b>	2.98 g/cm <sup>3</sup>
<b>Concentración metales pesados</b>	Menor a 50 ppm
<b>Tensión normal</b>	Superior a 50,8 MPa
<b>Tensión de cizalla</b>	Superior a 22 MPa
<b>Abrasión</b>	No especificado



#### 1.4.2. Materiales compuestos HAp/Ti.

Para entender mejor el interés que tienen los materiales compuestos o composites hay que fijarse en dos limitaciones básicas que tienen los métodos vistos hasta ahora. El primero es el E, los recubrimientos no modifican sustancialmente este factor ya que debajo del mismo sigue estando el mismo metal de antes. El segundo son los altos costes que conlleva realizar estos recubrimientos. [37] [48]

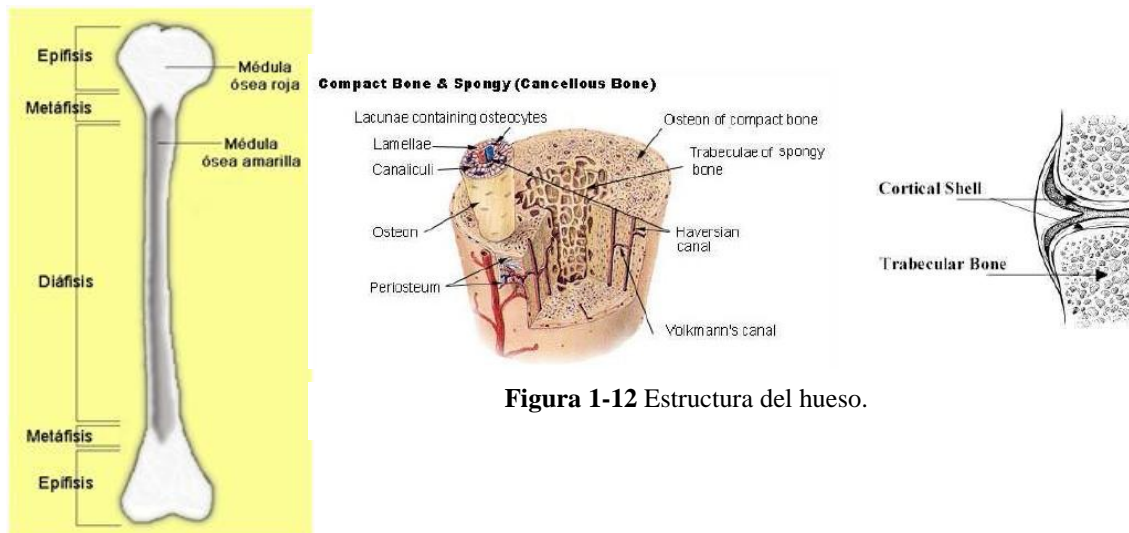


Figura 1-12 Estructura del hueso.

Figura 1-13 Partes de un hueso.

Antes de continuar es conveniente mencionar una característica muy importante en el hueso humano, la anisotropía, que hace muy difícil su reproducción por medio de las técnicas más tradicionales. Esta particularidad viene dada por los dos substratos diferentes que componen el hueso; uno de ellos es el hueso cortical que es normalmente la capa externa y más compacta; la otra es el hueso trabecular más poroso que el anterior y que conforma la estructura interna (Figura 1-12). El hueso cortical se puede encontrar en la diáfisis de los huesos largos (Figura 1-13). También se localiza formando la capa exterior alrededor del hueso trabecular de las vertebrae y en el extremo de las articulaciones. Su porosidad oscila del 5% al 10%. En cuanto al hueso trabecular se puede encontrar en el interior de las epífisis de los huesos cortos (Figura 1-13), de las vertebrae y en los huesos planos como la pelvis. Su porosidad oscila del 50% al 90%. [48] [41]

En base a todo lo explicado hasta el momento se hace patente que se necesita un biomaterial que pueda combinar la anisotropía con unas propiedades mecánicas y biocompatibles apropiadas.

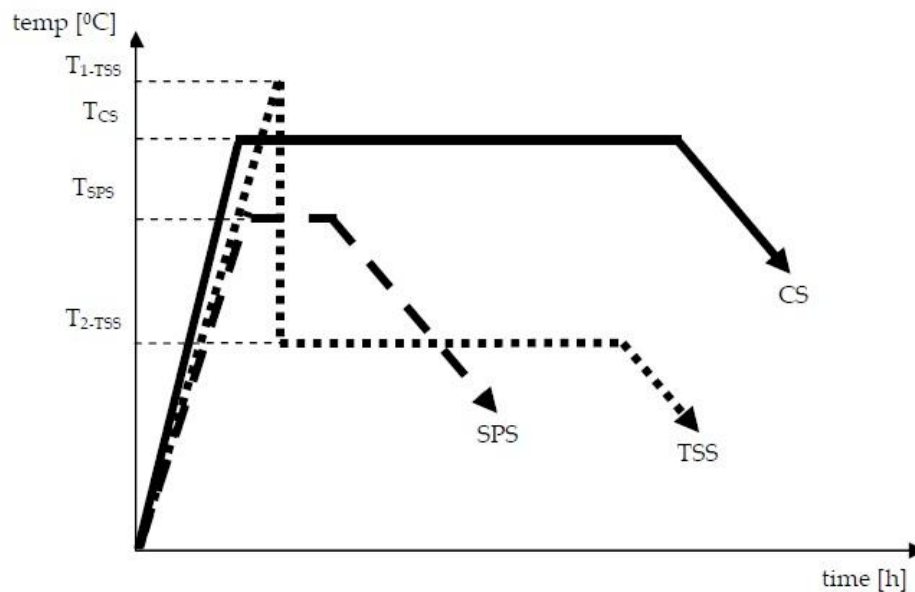
La pulvimetalurgia (PM) es una técnica flexible que permite escoger el ratio de refuerzo así como las características de sus componentes, matriz y refuerzo.



También permite seleccionar el tamaño, la forma y la composición química de las partículas que tienen una gran influencia en el resultado final. Al mismo tiempo es una técnica que puede permitir obtener biocomposites anisotrópicos gracias a los últimos avances en los procesamientos. Asimismo los últimos progresos en biocomposites han proporcionado importante información sobre los materiales nanoestructurados. Es por ello que los biocomposites micro y nano estructurados fabricados por PM son una sólida alternativa para solucionar las limitaciones antes descritas e incluso otras aquí no tratadas como el desgaste por tribocorrosión. [48]

Existen una gran variedad posibles combinaciones de materiales y de técnicas para obtener un material compuesto, no obstante este estudio se centrará solo en una combinación concreta, matriz HAp y refuerzo de Ti, y en dos de las técnicas existentes, Spark Plasma Sintering (SPS) y Two Step Sintering (TSS). Las razones que han llevado a esta elección son las siguientes: [41] [48]

- Las investigaciones realizadas hasta el momento han demostrado que la matriz de HAp, compuesta por nanopolvos, produce un comportamiento muy bueno entre el hueso y cualquier implante metálico.
- La matriz de HAp carece de estabilidad en sus dimensiones originales en su estado en bruto de sinterizado por lo que el refuerzo con materiales de diferentes tipos es muy recomendable, como por ejemplo Ti.
- La revisión bibliográfica realizada ha puesto de manifiesto que no existe mucha literatura sobre la combinación de material compuesto y técnicas propuestas, la escasa información encontrada en general corresponde a los tres últimos años. Si bien es cierto que la cantidad de información utilizando la técnica de SPS con otros materiales es algo mayor.
- El principal problema de las técnicas tradicionales de procesamiento en PM es el crecimiento de grano no deseado, para evitar esto se deben aplicar avanzadas técnicas de procesado que permitan tratamientos a bajas temperaturas y bajos tiempos de sinterizado. Dentro de este grupo se encuentran las tecnologías TSS y SPS, en la Figura 1-14 se presenta una comparación entre los tres métodos.



**Figura 1-14** Representación esquemática del ciclo de procesamiento en el caso de un sinterizado clásico (CS), Two Step Sintering (TSS) y Spark Plasma Sintering (SPS)

A continuación se describirán brevemente las dos técnicas anteriormente citadas: [56] [48] [57] [58] [59] [60]

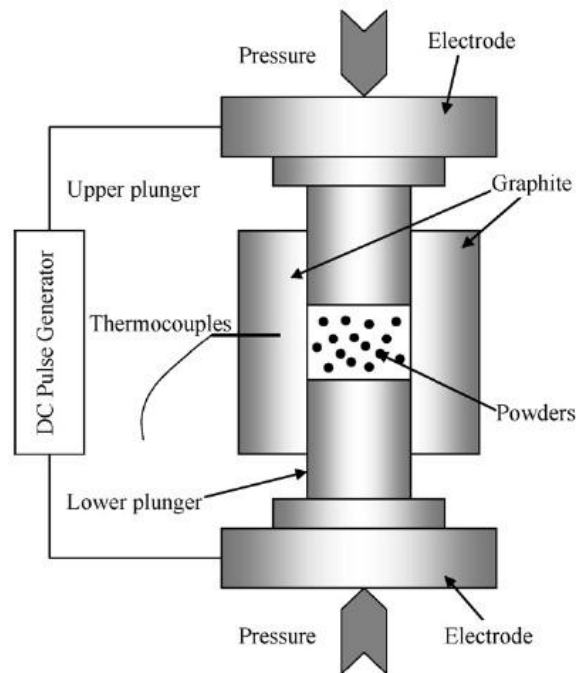
- Spark Plasma Sintering (SPS): (Figura 1-15)

El proceso consiste en lo siguiente: las partículas de material se introducen en una matriz de grafito, la cual se introduce en la cámara del aparato de SPS donde se hace vacío. Adicionalmente para evitar pérdidas de calor se rodean las caras verticales de la matriz con unas placas de grafito. A continuación se aplica presión a través de los punzones al tiempo que la temperatura se aumenta hasta los 1300 °C, a una tasa de 100°C/min por medio de una corriente eléctrica en continua de alto amperaje. Una vez alcanzada dicha temperatura se mantiene el material en estas condiciones durante 5 min y luego la corriente eléctrica se apaga, la presión se relaja y la muestra se enfría hasta temperatura ambiente.

La menor temperatura de este proceso frente al clásico observado en la Figura 1-14 se explica por el fenómeno de difusión que tiene lugar debido a las condiciones de plasma generadas entre las partículas de polvo. Así se obtienen tiempos de sinterización mucho menores (menos de 60 min) frente a la técnica convencional (normalmente horas). Tanto la menor temperatura como el menor tiempo de sinterización representan dos grandes ventajas de la SPS.

Por todo lo explicado anteriormente se puede decir que esta técnica es idónea para compuestos cerámicos que normalmente son sinterizados a altas temperaturas y largos tiempos de sinterización, así como para materiales

nanoestructurados ya que se puede conseguir mantener el tamaño de los granos nanométricos.



**Figura 1-15** Esquema de un equipo de SPS

- Two Step Sintering (TSS):

El proceso está compuesto por dos etapas, ambas tienen lugar en un horno clásico con una atmósfera especial que depende del procesamiento del material:

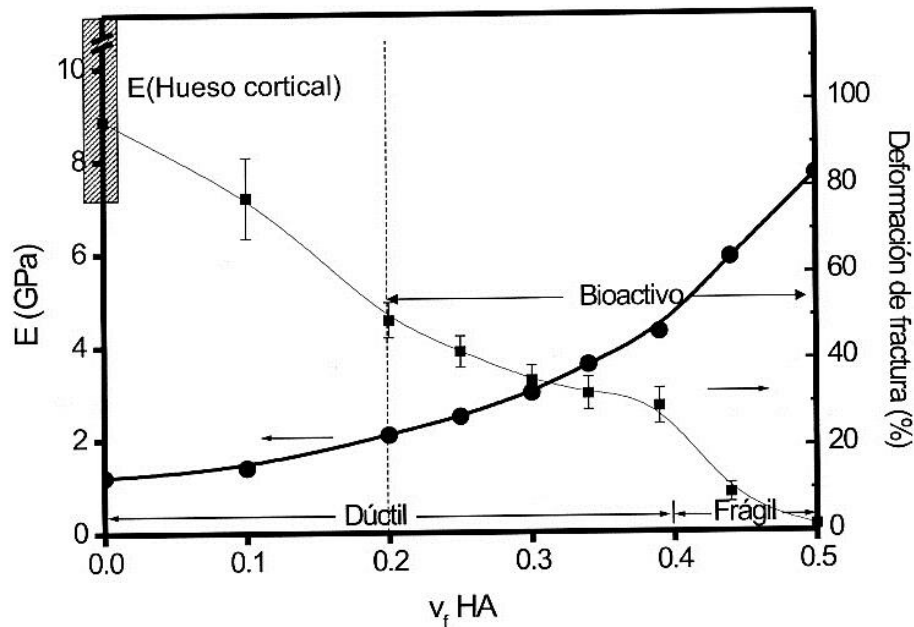
1. Con el fin de iniciar los procesos de difusión entre los materiales que componen la pieza en verde se calienta hasta la  $T_{1-TSS}$  que es más alta que la  $T_{cs}$  (Figura 1-14). El tiempo de esta primera etapa es muy corto, apenas unos minutos, solo para permitir el comienzo de los fenómenos de difusión.
2. Luego se enfría hasta  $T_{2-TSS}$  para moderar la migración por los bordes de grano y se mantiene esta temperatura hasta conseguir una densificación completa. La duración de esta etapa depende del material que se esté procesando.

La principal ventaja de este método frente al convencional es la capacidad que tiene para adaptar los parámetros de temperatura y tiempo para conseguir el tamaño de grano deseado.

Cabe destacar que de las dos técnicas explicadas anteriormente el SPS reúne en un mismo proceso dos etapas de la PM, esto es la compactación y el sinterizado.

Por otro lado no hay que olvidarse de la influencia de los componentes del material compuesto en el E y la deformación a fractura, por ello se pone como ejemplo la Figura 1-16 en la que se puede ver la variación del módulo de Young en

función de la cantidad de HAp. Se observa que a medida que aumenta la fracción en volumen de HAp el módulo de Young aumenta y la deformación de fractura disminuye. Con esto se refuerza la idea, vista anteriormente, de que el refuerzo de la matriz de HAp con otro material es muy recomendable. [41]



**Figura 1-16** Efecto de la fracción en volumen del refuerzo de partículas sobre el módulo y la deformación de ruptura del composite polietileno de alta densidad (HPDE) - HAp [41]

## 2. Motivación

En la actualidad la mayor parte de los implantes de hueso consisten en un cuerpo de alguna aleación metálica, que proporciona las características mecánicas, con un recubrimiento que les proporciona mayor resistencia a la corrosión y que a su vez mejora las características de osteoconducción, osteoinducción y osteointegración. Generalmente estos implantes se obtienen por técnicas de fabricación tradicionales, como puede ser la forja o la fundición, a pesar de que hoy en día se dispone de otras modernas como es la PM.

La PM es una tecnología que permite ahorrar tiempo y costes en los procesos de fabricación de implantes. Además permite controlar mucho mejor las características finales de las piezas obtenidas y ofrece la posibilidad de imitar las características anisotrópicas del hueso. A su vez dentro de esta tecnología existen técnicas tradicionales y modernas, en este último grupo se encuentran la sinterización por Two Step Sintering (TSS) y la compactación y sinterización por Spark Plasma Sintering (SPS).

Por otro lado, los materiales utilizados son generalmente los mismos. Esto es Ti c.p. o alguna de sus aleaciones y un compuesto bioactivo generalmente HAp, dados los buenos resultados que acumula hasta el momento, que mejora la capacidad osteoinductora del material. Aunque la combinación de Ti e HAp es bastante frecuente, no es así cuando se combinan utilizando la HAp como matriz y el Ti de refuerzo.

Al realizar la revisión bibliográfica conjugando todas las características anteriores, esto es un material compuesto HAp/Ti fabricado por PM utilizando como técnica de sinterizado TSS y de sinterizado y compactación SPS, se ha observado la escasa información existente sobre ello. Hecho que se explica por lo novedoso de la combinación pero también por el escaso uso que se hace en la medicina de las tecnologías más modernas debido al limitado conocimiento acumulado que aún existe sobre ellas. También hay que añadir que el proceso de validación, estudio *in vitro* e *in vivo* de cualquier biomaterial es muy largo y costoso, por lo que para iniciarlo es necesario un estudio previo que sustente y promueva el arranque de dicho proceso.

Estas son las razones que llevan a realizar este estudio previo de biocompatibilidad de un material compuesto de HAp/Ti fabricadas por tecnología de polvos (PM) utilizando dos métodos diferentes, SPS y TSS, dentro de cada cual también se varían los diferentes parámetros del proceso de fabricación.

### 3. Objetivos

El objetivo general que se persigue en este proyecto es el de realizar una análisis previo de biocompatibilidad de un material compuesto HAp-Ti fabricado por pulvimetalurgia del cual se tienen varias muestras procesadas por dos técnicas diferentes, Two Step Sintering (TSS) y Spark Plasma Sintering (SPS).

Para alcanzar dicho objetivo se llevarán a cabo las tareas que a continuación se indican:

- Caracterización microestructural por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM) y difracción de rayos X (DRX) con el fin de comprobar que el material obtenido contiene los compuestos esperados.
- Caracterización mecánica del material, que consiste en la obtención del E del material por medio de pruebas de microdureza.
- Determinación del comportamiento de las muestras ante un medio similar al fluido fisiológico, disolución de Lactato de Ringer. Para ello se estudiará la evolución de la concentración del P y el Ca, componentes principales de la hidroxiapatita, en la superficie de las probetas por medio de la microscopía electrónica de barrido (SEM) y análisis cuantitativo (EDS-EDAX).

Una vez recopilada toda la información se evaluarán los resultados para determinar qué muestras de las disponibles son las mejores candidatas a ser biocompatibles y en base a estos se seleccionara el mejor candidato para la realización de la siguiente fase de pruebas, “in vitro” e “in vivo”.

Así mismo se tratará como objetivo secundario la evaluación del método propuesto para estudiar el comportamiento del material ante un fluido que simula el entorno fisiológico, en inglés *simulated body fluid* (SBF en adelante).

## 4. Desarrollo experimental

### 4.1. Materiales

Los elementos que forman el material compuesto, objeto de investigación en este proyecto fin de carrera, son el  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  o hidroxiapatita y  $TiH_2$  sinterizados por dos métodos diferentes.

- SPS (Spark Plasma Sintering): Se dispone de dos combinaciones y un juego de muestras ya embutido en resina no conductora.
- TSS (Two Step Sintering): Se dispone de tres combinaciones y cuatro juegos de muestras uno de ellos ya embutidos en resina no conductora.

La totalidad de las muestras han sido suministradas por la Universidad de Cracovia, En apartados posteriores se describirán los procesos de fabricación al que han sido sometidos los materiales para obtener las muestras finales proporcionadas al departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química de la Universidad Carlos III de Madrid.

Cada una de las combinaciones posee la misma cantidad de los componentes, 25%wt  $TiH_2$  y 75%wt HAp, pero han sido procesadas variando algunos de los parámetros. A continuación se muestra un resumen (Tabla 4.1) de los parámetros para cada uno:

**Tabla 4-1:** Parámetros de los procesos SPS y TSS

Tipo Sinterizado	Nº pieza	T(K)		t(min)	P(MPa)	F (KN)
SPS	3	1373		20	(*)	7
	4	1373		10	(*)	7
TSS	2	1173	973	300	90	(*)
	4.3	1173	1023	300	150	(*)
	4.5	1173	1023	450	150	(*)

(\*) No son parámetros de trabajo por lo que no se indica en la tabla.

Las piezas obtenidas por TSS tienen unas dimensiones de aproximadamente de 10 mm de radio y un espesor de 6.8 mm y las obtenidas por el tratamiento SPS tienen formas irregulares (Figura 4-1).





**Figura 4-1** Ejemplo de las muestras de material compuesto de las que se dispone, las dos de la izquierda son de tipo TSS y las tres de la derecha de tipo SPS

Para facilitar su manejo, protegerlas y obtener una única cara de exposición al medio fisiológico se realiza la embutición de varios juegos de muestras, en la Tabla 4-2 se presenta un resumen con el número total de probetas embutidas.

**Tabla 4-2:** Resumen número de piezas disponibles

Muestra nº	2	4.5	4.3	4	3
nº muestras embutidas	3	3	3	1	1

#### 4.1.1. Procesamiento muestras TSS y SPS:

Las muestras que se utilizarán en este estudio están formadas por una matriz de partículas en polvo de HAp, que es la matriz, con un tamaño de partícula <200 nm, y de TiH<sub>2</sub>, que es el refuerzo, con un tamaño de 100 µm. La relación en peso usada entre los dos componentes es de 75%HAp y 25%TiH<sub>2</sub>. Para su mezclado la HAp es calentada a 900°C durante una hora en presencia de aire, posteriormente se procede a la homogeneización de los dos componentes por medio de un molino de bolas, Fritsch – Pulverisette 6, durante 20 min., con los siguientes parámetros de trabajo:

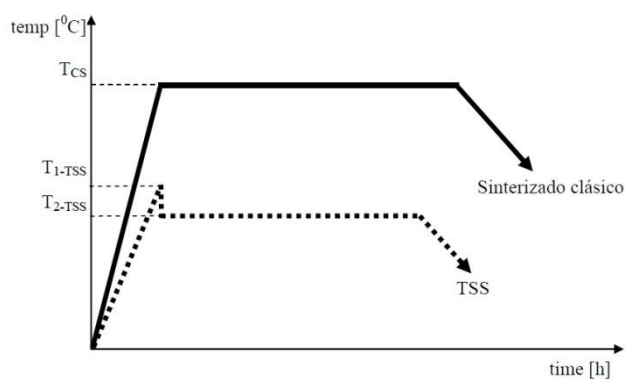
- n = 200 r.p.m.
- Etanol líquido con la proporción:  $\frac{1 \text{ ml}}{1 \text{ g mezcla de polvos}}$
- Bolas de acero inoxidable de 5mm de diámetro.
- Relación de la mezcla de polvos 2:1

Después del proceso de mezcla se realiza el secado, para lo cual se dejan durante una noche en un horno con aire a 200°C y finalmente se vuelve a mezclar durante un minuto en el molino planetario de bolas.

#### 4.1.2. Two Step Sintering (TSS)

Tras el mezclado de los polvos se debe obtener la pieza en verde que posteriormente será sinterizada. Los pasos seguidos son los siguientes:

1. Para obtener la pieza en verde se realiza la compactación en frío en una prensa uniaxial, en concreto en una máquina de ensayos electromecánica computerizada A009 de 100KN equipada con software TCSOFT2004Plus [61]. La finalidad de esta operación es obtener muestras cilíndricas de 12 mm de diámetro, para ello los polvos se introducen en una matriz metálica y se consolidan mediante la aplicación de presión, en este caso 90MPa y 150MPa.
2. La segunda etapa del tratamiento consiste en la sinterización por TSS. Para ello se efectúa un primer calentamiento de la muestra a baja temperatura ( $T_1$ ), por debajo de la temperatura clásica de sinterización ( $T_{cs}$ ), seguido por un enfriamiento a una temperatura más baja ( $T_2 < T_1$ ) para evitar la difusión en el borde de grano. La muestra se mantiene a esta temperatura,  $T_2$ , hasta que la densificación se completa (Figura 4-2). Para llevar a cabo el proceso térmico descrito se usa un horno Nabertherm tipo L5/12 de temperatura máxima 1200°C, con conexión en la parte trasera del horno para el gas protector y control de temperatura en el panel frontal del horno. [62] Durante todo el tratamiento de sinterización se ha usado como atmósfera protectora gas Argón (99.98% pureza).



**Figura 4-2** Representación esquemática y comparación del ciclo térmico clásico (CS) y del ciclo de sinterizado en dos etapas (TSS)

Resulta interesante destacar que la razón por la cual  $T_1$  es menor que  $T_{cs}$ , en concreto 900°C, se encuentra en que según la bibliografía revisada la descomposición esperada de la HAp por la presencia del Ti debe ser muy baja. [63]

Los parámetros tecnológicos de la sinterización por TSS que se han utilizado se resumen en la Tabla 4-3.

**Tabla 4-3** Parámetros tecnológicos de la sinterización por TSS

Nº Muestra	Presión de compactación [MPa]	TSS			
		T <sub>1-TSS</sub> [°C]	τ <sub>1-TSS</sub> [min.]	T <sub>2-TSS</sub> [°C]	τ <sub>2-TSS</sub> [min.]
2 (3 piezas)	90	900 con tasa de calentamiento 10°C/min.	1...5	700	300
4.3 (3 piezas)	150			750	300
4.5 (3 piezas)				750	450

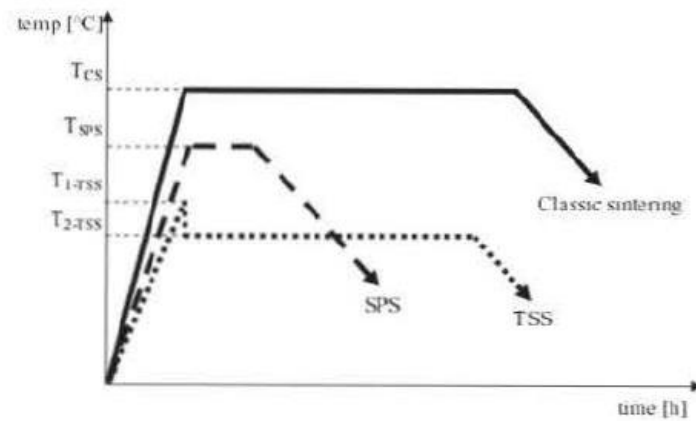
#### 4.1.3. Spark Plasma Sintering (SPS)

Tras el procesado de las muestras, al igual que en el caso anterior, se pasa a las fases de compactación y sinterizado, que en este caso se llevan a cabo de forma conjunta debido a la técnica utilizada, SPS. Debido a la procedencia de estas muestras no se dispone de información sobre los equipos utilizados, tan solo se sabe que el tratamiento se desarrolla en vacío y que los parámetros generales del proceso son los siguientes:

**Tabla 4-4** Parámetros generales del procesado por SPS

Nº Muestra	T(K)	t(min)	Carga (KN)	Tasa de calentamiento (°C/min)
3	1373	20	7	10
4	1373	10		

Al igual que en el apartado anterior se presenta en la Figura 4-3 la comparación del tratamiento SPS con el ciclo térmico TSS utilizado y con un ciclo clásico de sinterización. En este caso existen dos hechos que destacar, el primero es que la temperatura es mayor que en el anterior por lo que se debería esperar una cantidad de HAp pura menor que en el SPS, lo que dificultará su identificación mediante difracción de rayos X. El segundo hecho es que el tiempo del tratamiento es el menor de los tres y dado que también incluye la compactación, supone una clara ventaja frente a los otros dos. [63]



**Figura 4-3** Representación esquemática y comparación del ciclo térmico clásico (CS), el ciclo Two Step Sintering (TSS) y el ciclo de compactación y sinterización Spark Plasma Sintering (SPS)

## 4.2. Estudio de bioactividad.

Según diversos estudios si un biomaterial demuestra ser bioactivo en las pruebas in vitro también mostrará ese comportamiento en las pruebas in vivo. Así según la bibliografía revisada la HAp resulta ser bioactiva, provocando la deposición de Ca y P sobre su superficie al sumergirlo en un SBF. Cabe mencionar que esta experiencia no es propiamente dicha una prueba in vitro, ya que estas se hacen con cultivos celulares, sino más bien una fase previa a la misma. En cuanto a su duración es variable según el objetivo que se persiga, si la intención que se tiene es estudiar el comportamiento del material la duración suele estar entorno a los 30 días. [37] [59] [60] [63] [64]

En base a lo comentado anteriormente y la literatura revisada para llevar a cabo el estudio del bioactividad de estas muestras ante un medio fisiológico se ha decidido lo siguiente:

- El SBF será solución de lactato de Ringer Hartmann Braun, ya que se trata de una solución comercial ampliamente utilizada en el campo médico y cuyo pH resulta ser muy estable no siendo necesario el control de las concentraciones de los componentes de la disolución. Además ofrece una composición y concentración similar al medio fisiológico real, que se encuentran resumidas en la tabla siguiente:

**Tabla 4-5** Composición Solución Lactato de Ringer.

<b>Composición de Solución Lactato de Ringer (por 100 ml de disolución)</b>	
<b>Cloruro sódico (NaCl)</b>	600 mg
<b>Cloruro potásico (KCl)</b>	40 mg
<b>Cloruro cálcico dihidratado (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O)</b>	27 mg
<b>Lactato sódico</b>	312 mg
<b>Composición iónica</b>	
<b>Ión sodio (Na<sup>+</sup>)</b>	131
<b>Ión potasio (K<sup>+</sup>)</b>	5,4
<b>Ión calcio (Ca<sup>++</sup>)</b>	3,6
<b>Ión cloruro (Cl<sup>-</sup>)</b>	112
<b>Ión lactato (CO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>)</b>	28
<b>pH</b>	5-7

- Se llevarán a cabo distintos tiempos de inmersión, hasta un máximo de 30 días (Tabla 4-6).

**Tabla 4-6** Tiempos de exposición a disolución Ringer

Tiempo exp. (días)	7	15	30
-----------------------	---	----	----

- Para cuantificar las concentraciones de Ca, debido a la composición del SBF solo se podrá depositar este elemento, se utilizará el análisis semicuantitativo EDX de un microscopio electrónico de barrido. Aunque también se realizarán controles visuales por medio de fotografías hechas con el SEM.
- Por otro lado, dado que las probetas de las que se dispone ya contienen una cantidad inicial de HAp, la cual está compuesta entre otros elementos de Ca y P, resultará imprescindible realizar controles iniciales de cada tanda de experiencias para poder tener un valor de referencia con el que luego hacer la comparación relativa.

Para el seguimiento de la bioreactividad (la cuantificación de las concentraciones de Ca y P) de las muestras ante un SBF, se ha escogido el microscopio electrónico de barrido (SEM), Philips XL-30. Las razones de dicha elección son las siguientes:

1. Debido a su tecnología permite un mayor número de aumentos que un microscopio óptico tradicional, así como una mejor resolución.
2. Este modelo en concreto permite realizar análisis semicuantitativos por medio de difracción de rayos X (EDS-EDAX), herramienta por la cual se obtienen los valores de concentración de los diferentes componentes de control.

Debido a las características de las muestras con las que se trabaja y el principio de funcionamiento del SEM, que se explica en el Anexo-I, se hace necesario recubrirlas previamente. De entre las dos opciones de recubrimientos, Carbono (C) y Oro (Au), se ha decidido escoger este último ya que su nivel de conducción es mayor.

#### **4.2.1. Fundamentos de la deposición de Ca y P.**

En la revisión bibliográfica realizada no se ha encontrado ningún estudio que trate expresamente la combinación de materiales aquí tratados, lo que se debe esencialmente a la novedad que supone el mismo. Así, se ha decidido justificar el

comportamiento de cada elemento principal, HAp y Ti, en base a otras experiencias y referencias encontradas.

Según el artículo [65] las concentraciones de Ca y P son unos buenos indicadores de la respuesta de un material bioactivo ante un SBF. Ca y P son los elementos básicos que constituyen la HAp la cual es una de las primeras reacciones regeneradoras que el cuerpo muestra ante una fractura ósea o un implante óseo y uno de los elementos mayoritarios que constituye la fase mineral de los huesos. [66]

Los estudios [37] [59] [60] [63] [64] [67] indican que el aumento de los iones de Ca y P sobre un recubrimiento de HAp responden al comportamiento activo de la misma. En los artículos [68] y [69] se puede encontrar la demostración de que la respuesta ante un SBF de una aleación de Ti recubierta de óxido de titanio, una de las estrategias ya vistas para conseguir propiedades bioactivas, son depósitos de Ca y P (Figura 4-4).

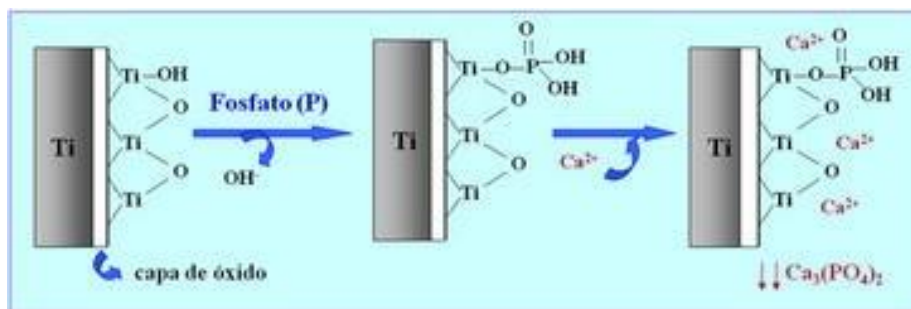


Figura 4-4 Esquema de la reacción del Ti ante un SBF

#### 4.2.2. Estudio mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)

La utilización del SEM como herramienta de cuantificación de la variación de las concentraciones de Ca y P es una técnica que avalan diversos estudios, como por ejemplo, [59] [60] [64] [67]. En el Anexo I se puede encontrar una breve explicación sobre los fundamentos de esta tecnología y su uso.

Para el estudio de la topografía y la fases se ha utilizado un microscopio electrónico Philips XL-30 (Figura 4-5), el estudio semicuantitativo y cualitativo de la composición química de la muestra se ha realizado con un analizador EDAX DX-4 de espectroscopia de energía de rayos dispersos (EDS) incorporado en el propio microscopio. Las características de este SEM se indican en la Tabla 4-7. El microscopio se encuentra conectado a un ordenador que lo controla mediante unos programas que permiten tomar fotografías y realizar análisis semicuantitativos.



**Tabla 4-7:** Características del SEM Philips XL-30

<b>Modelo</b>	Philips XL-30
<b>Resolución</b>	3.5 nm (Acc. V.30KV)
<b>Voltaje de aceleración</b>	02-30 KV
<b>Aumentos</b>	10-200.000
<b>Cañón</b>	Termoiónico Wolframio
<b>Microanálisis (EDS)</b>	EDS EDAX DX4
<b>Detectores</b>	Electrones secundarios Electrones retrodispersados Rayos X
<b>Presión de vacío hasta</b>	$3 \times 10^{-6}$
<b>Potencial usado</b>	17kV



**Figura 4-5** SEM Philips XL-30

Dada la necesidad de que las muestras sean conductoras, ocasionalmente se puede utilizar la técnica de Sputtering o pulverización catódica (Figura 4-7), es un proceso de vaporización, no térmica, en el cual los átomos de la superficie del material de recubrimiento son desprendidos físicamente debido a una transferencia de momento, provocada por el bombardeo de una especie atómica. [70] [71]

En dicha técnica se realiza un bombardeo iónico del material blanco, normalmente C u Au, de esta forma se consigue la deposición en fase vapor de este. Dichos iones se obtienen del plasma que se forma al someter un gas, en este caso Ar, a un gran diferencial de potencial. Así estos iones son acelerados adquiriendo la energía suficiente, para que al golpear al blanco, puedan arrancar átomos de su superficie en un proceso de transferencia de momento. Finalmente estos átomos alcanzan y se adhieren a la superficie de las muestras. [71] [70]

Debido a la muy baja conductividad del composite que es objeto de estudio de este proyecto fin de carrera se utilizara el Au frente al C ya que resulta ser el más conductor de los dos.

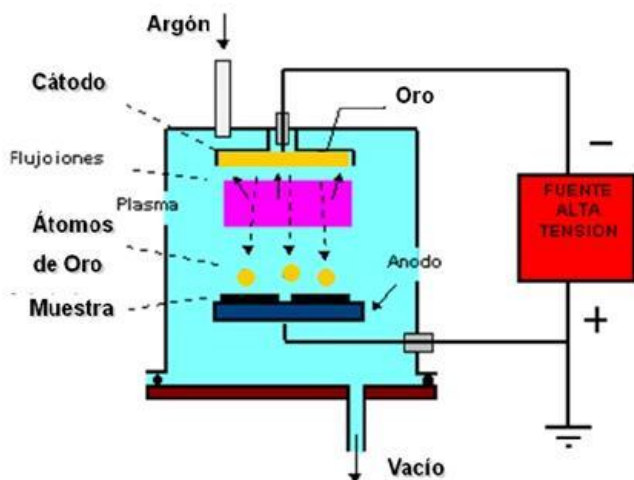


Figura 4-7 Esquema de la pulverización catódica. [85]



Figura 4-6 Máquina de sputtering utilizada.

La Figura 4-6 muestra la máquina utilizada en el sputtering. Está compuesta por una fuente de alimentación de corriente continua (1 a 3 kV) conectada por el cátodo a la tarjeta de oro y por el ánodo al porta-muestras. Asimismo cuenta con una bomba de vacío acoplada a la campana, el gas es suministrado por unas bombonas externas conectadas a la misma campana de vacío. El espesor de la capa de oro depositada depende del tiempo de exposición.

### 4.3. Caracterización de los materiales

Las dos siguientes pruebas forman parte, al igual que la anterior, del análisis previo de biocompatibilidad que se está llevando a cabo en este proyecto.

#### 4.3.1. Caracterización microestructural por difracción de rayos X (DRX)

Después de la revisión de la literatura realizada se ha observado que el análisis por difracción de rayos X es una técnica muy utilizada para estudiar la composición de los materiales tras su procesamiento, no solo biocomposites sino por ejemplo también en recubrimientos, y de esta forma saber si se ha obtenido lo que se deseaba. Además, se ha podido comprobar que es una de las técnicas que goza con mayor prestigio entre la comunidad científica para obtener las estructuras cristalinas. Esto se debe principalmente a la precisión de la técnica y la experiencia acumulada durante décadas que la convierten en una tecnología muy fiable. Asimismo es una técnica no destructiva que apenas exige preparación de la muestra.

En el Anexo II se explica a grandes rasgos los fundamentos de esta tecnología y su uso.

Para llevar a cabo esta prueba se utiliza un difractómetro de rayos X Philips MRD X'pert (Figura 4-8), que cuenta con una fuente de rayos X de ánodo de Cu. Esta máquina se encuentra conectada a un ordenador que la controla por medio del programa X'Pert Data Collector, además cuenta con los programas Dataview, para extraer los datos a un archivo de datos para Excel, y X'Pert High-Score para estudiar el difractograma y deducir los elementos del material analizado. Se utiliza una muestra de cada tipo cuya superficie ha sido preparada previamente a la introducción de la misma en la máquina de DRX, con el objetivo de eliminar posibles restos de la resina utilizada en la embutición.



**Figura 4-8** DRX Philips MRD X' pert

#### **4.3.2. Microdureza [72] [73]**

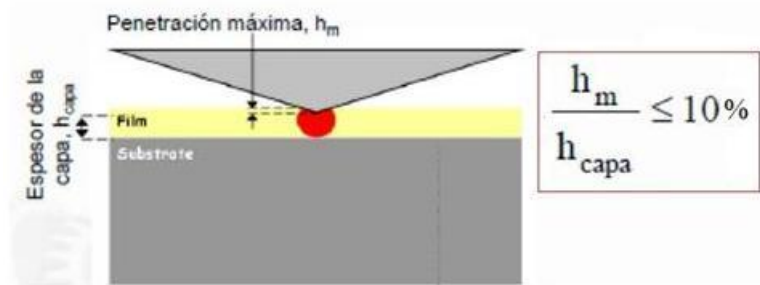
Las pruebas de nanoindentación han sido realizadas en la Universidad Politécnica de Madrid (UPM); a continuación se explicarán los motivos por los cuales se ha elegido esta técnica y no la de dureza convencional.

El principio de funcionamiento de las técnicas de dureza convencional, Brinell o Knoop/Vickers, se basan en la aplicación de una carga estática mediante un penetrador de una determinada geometría dejando una huella en la superficie. Así la dureza se determina midiendo la superficie de la huella residual mediante el microscopio óptico, quedando la formula de la siguiente forma:

$$D \equiv \frac{\text{Carga aplicada}}{\text{Superficie de la huella residual}}$$

Estas técnicas presentan una serie de limitaciones, como son:

- Ópticas: Para cargas bajas huellas demasiado pequeñas para su observación a través del microscopio óptico.
- Resultados: No se puede obtener el módulo elástico.
- Aplicaciones: Son técnicas muy destructivas que afectan a un gran volumen del material en estudio. Para la determinación de la dureza en capas delgadas la penetración máxima del indentador debe ser inferior al 10% del espesor de toda la capa, con el fin de evitar la influencia del sustrato.

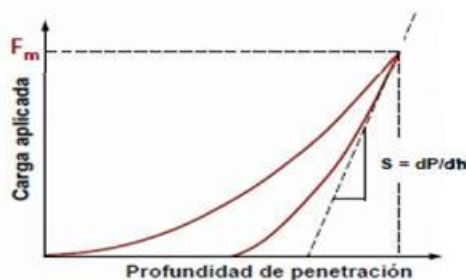


**Figura 4-9** Esquema de la profundidad máxima para evitar la influencia del sustrato

La micro o nanodureza tiene dos características básicas diferentes, las cargas utilizadas son menores de 1Kg y la huella dejada por el indentador no se puede apreciar con el microscopio óptico. Antes de explicar cómo funciona esta técnica, se considera importante citar tres de sus mayores ventajas:

- Técnica de ensayo no destructivo
- Zona afectada por la prueba muy pequeña.
- Permite la obtención del módulo elástico.

En microdureza lo que se hace es medir de forma combinada durante la prueba (Figura 4-10) el desplazamiento del indentador (profundidad de penetración),  $h$ , en función de la carga aplicada,  $F$ , todo este proceso requiere de un registro continuo por lo que se encuentra totalmente automatizado por medio de un ordenador. Las curvas así obtenidas permiten determinar directamente la dureza ( $H$ ) y el módulo de elástico ( $E$ ) de la superficie según las ecuaciones 4.2 y 4.3 respectivamente. Asimismo se pueden obtener las curvas de deformación plástica y elástica del material analizado.



**Figura 4-10** Curva carga aplic./Prof. penetración

$$H_{IT} = \frac{F_m}{A_p} \quad (4.2) \text{ Dureza Meyer}$$

$F_m \equiv$  Carga máxima aplicada

$A_p \equiv$  Área de contacto proyectada, calculada a partir de la profundidad a carga máxima.

$$E_r = \frac{\sqrt{\pi}}{2\beta} \cdot \frac{S}{\sqrt{A_p}} \quad (4.3) \text{ Módulo elástico reducido}$$

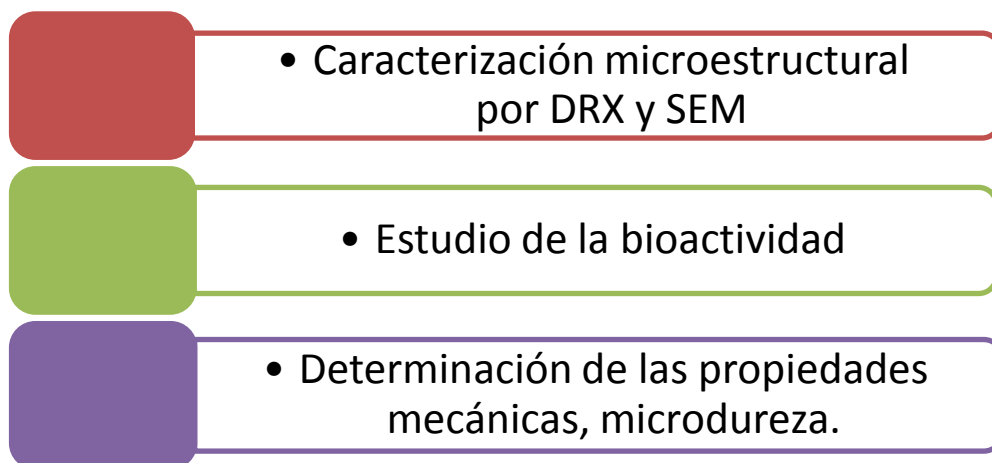
$S \equiv$  Rigidez de contacto

$\beta \equiv$  Cte. Dependiente del indentador

En esta prueba se proporcionan a la UPM dos juegos de muestras completos, salvo para las de tipo SPS de las que solo se dispone de uno (en total 8 ejemplares). Cada valor medio se obtiene a partir de una matriz de 5x5 medidas, es decir 25 puntos.

#### 4.4. Desarrollo del proceso experimental

Para llevar a cabo el análisis sobre la idoneidad de las muestras del material compuesto como biomaterial se ha diseñado y llevado a cabo el siguiente estudio, que se compone de una serie de etapas que se detallarán a continuación.



Para la caracterización química se sometió a un juego de las muestras embutidas, esto es dos modelos de SPS y tres modelos de TSS, a las siguientes operaciones previas para su posterior análisis por DRX:

1. Desbaste con papel de lija de 400pp.
2. Desbaste con papel lija de 1000pp.
3. Pulido fino con alúmina.

De una operación a otra se limpia la muestra con agua destilada para eliminar los posibles residuos, evitando el desgaste tribológico que podría dar lugar a un mal resultado en las citadas operaciones así como resultados erróneos en el difractómetro. En las dos primeras operaciones se utilizó una máquina devastadora Buehler y para la última operación se utilizó una pulidora Struers Dap-7 a 200 r.p.m. con plato de alúmina de 1µm (Figura 4-11).

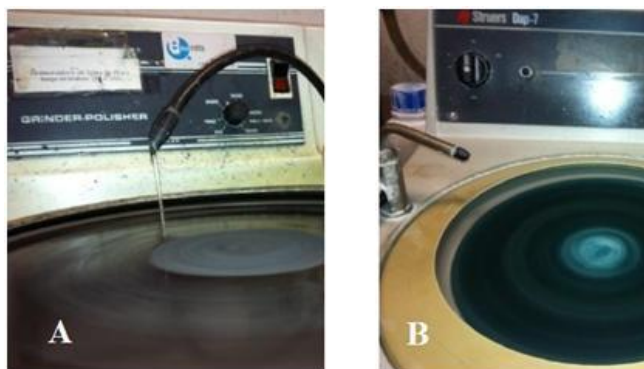


Figura 4-11 A) Desbastadora Buehler B) Pulidora Struers Dap-7

Tras estas acciones preparatorias se dispone la muestra en la máquina de DRX y se le somete a un análisis con los parámetros indicados en la Tabla 4-8. La justificación de la elección del parámetro  $2\theta$  se puede encontrar tanto en las fichas disponibles como en la bibliografía revisada, en la que se pudo observar que para los elementos de interés estos eran lo más relevantes.

**Tabla 4-8** Parámetros utilizados en el estudio por DRX

Parámetros	Valor
Rango $2\theta$	$30^{\circ}$ - $75^{\circ}$
Tipo Sean	Step
Paso	$0.02^{\circ}$
Tiempo paso	1 s
Nº pasos	2251

Aunque se explicará en el apartado de resultados, resulta conveniente comentar que durante esta prueba se tienen algunos problemas para determinar la composición de las muestras SPS, por lo que para solucionar estas dudas se decide hacer un análisis de la misma por SEM.

Después de los ensayos de difracción se pasa a los ensayos de bioactividad. En esta fase se introducen las muestras en recipientes estériles que se llenan de un SBF, en concreto Lactato de Ringer, y se mantienen a una temperatura constante de  $36.5 \pm 0.5$  °C . Asimismo para mantener constante las concentraciones de la disolución se revisa a diario que el nivel de la misma se mantenga constante, en caso de haber disminuido se rellena con agua destilada.

Como ya se ha mencionado en el apartado 4.2.2 debido a las características del material de las muestras se hace necesario recubrirlas con una fina película de Au, mediante la técnica de sputtering. Igualmente, dadas las características del material seleccionado para la embutición también se usa pintura de grafito para cerrar el circuito con la muestra. Es importante recordar que el motivo de estos pasos se debe a la necesidad de formar un circuito cerrado que conduzca los electrones absorbidos. Cabe mencionar que durante el proceso de preparación de las muestras se usan guantes de látex para evitar posibles contaminaciones de las muestras así como de la cámara de vacío del microscopio y que el potencial acelerador utilizado durante todos los análisis es de 17 kV.





**Figura 4-12** Imágenes del equipo utilizado para la exposición de las muestras al SBF, a la izq. incubadora que mantiene la temperatura a 36.5°C y a la izquierda recipiente donde se introducen las piezas y se llena con SBF.

En esta etapa cada una de las muestras se somete al siguiente procedimiento:

1. Análisis inicial con el SEM de todas las muestras, previo recubrimiento de Au para poder estudiarlo en el SEM.
2. Inmersión de las muestras en disolución Ringer a diferentes intervalos de tiempo, concretamente 7 días, 15 días y 1 mes. En la Tabla 4-9 se resumen las muestras disponibles y las repeticiones realizadas con cada una. El objetivo de las reiteraciones es obtener unos resultados fiables y robustos. También es importante resaltar que los tiempos de exposición no son acumulativos, es decir, que de una experiencia a otra hay que dejar pasar el periodo de tiempo completo de nuevo.
3. Después de cada inmersión y para su estudio en el SEM, se recubren de oro. En el momento de introducir la muestra en la cámara de vacío se pega a un porta mediante una cinta adhesiva de carbono y se utiliza pintura de carbono para cerrar el circuito, la cual se extiende desde la cara superior hasta la cinta. Una vez se encuentra en la cámara mencionada y antes de cerrarla para hacer vacío se enrasa con un utensilio para que la wide distance (WD) se encuentre siempre entorno a 10.
4. Una vez se tiene la muestra en el microscopio se toman fotografías y se realizan análisis semicuantitativos en el cual los elementos seleccionados a cuantificar son Ca, Ti, P, Na, Cl y O.
5. Tras el análisis de las muestras se las somete al mismo proceso que se ha llevado a cabo en la preparación de las muestras para el DRX con el objetivo de la eliminación de la capa de oro. Posteriormente se



lavan con agua destilada los recipientes y las muestras para quitar los posibles residuos que hayan quedado.

6. A continuación se vuelven a sumergir las muestras en la disolución para realizar la experiencia al siguiente intervalo de tiempo que corresponda.

**Tabla 4-9** Resumen cantidad de muestras disponibles y repeticiones realizadas.

Muestra nº	2	4.5	4.3	4	3
Nº muestras embutidas	3	3	3	1	1
Repeticiones	3			2	

Para el análisis del SEM se tomaron diversas fotografías en los dos modos disponibles de detectores, SE (secundarios) y BSE (retrodispersados), y se realizaron análisis semicuantitativos a distintos aumentos, en la lista siguiente se resumen:

- En modo detectores secundarios: fotografías a x80, x500, x1000, x6500
- En modo detectores retrodispersados: fotografías a x80, x500, x1000, x6500 y análisis semi-cuantitativos a x1000 y a x6500.

Para la caracterización física se llevan a cabo pruebas de microdureza, obteniendo su H y el E. Para ello se envían dos juegos de muestras completos a la UPM, salvo para las SPS de las que solo se dispone de uno y por lo tanto realizarán las dos tandas de medidas sobre la mismas muestras.

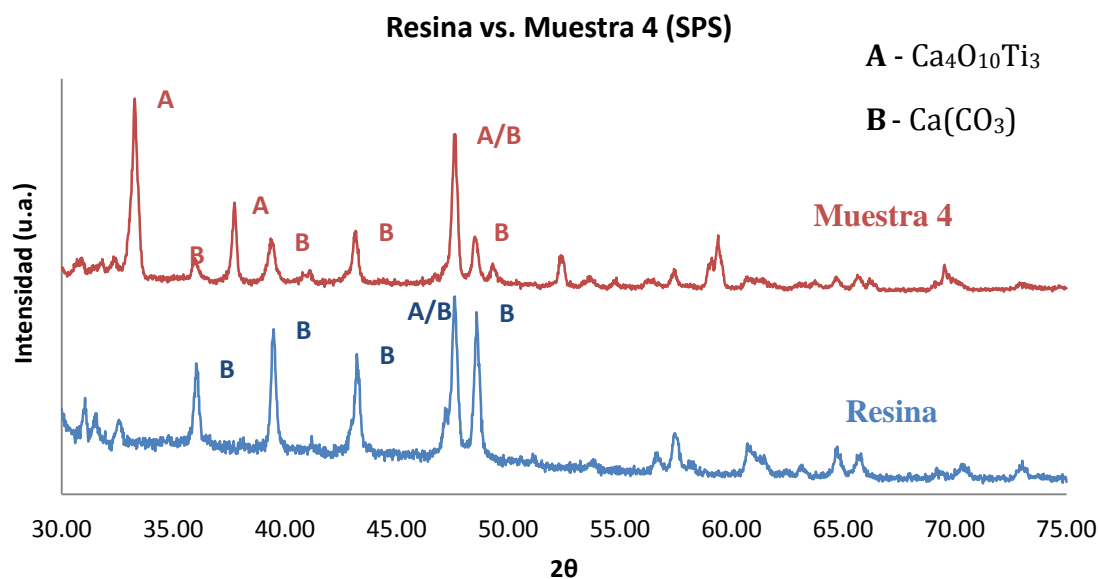
## 5. Resultados y discusiones.

### 5.1. Caracterización microestructural por difracción de rayos X

En esta apartado se mostrarán los resultados obtenidos de las pruebas realizadas con el DRX y se distinguirá entre SPS y TSS.

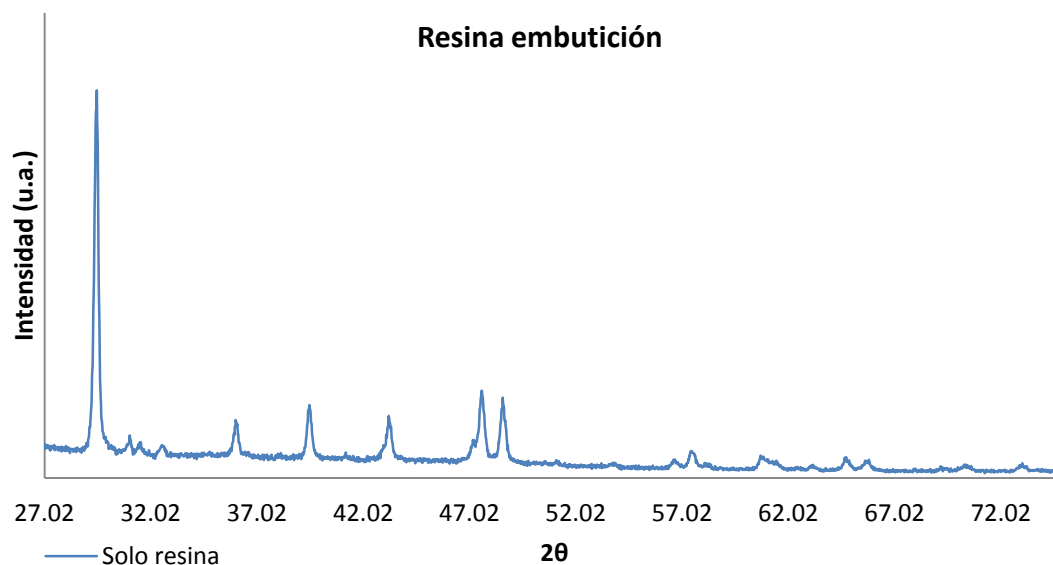
#### 5.1.1. Muestras SPS

Para el análisis de estas muestras, debido a que solo se dispone de un juego de las mismas ya embutidas, es necesario hacer un primer análisis disponiendo la pieza de forma que la máquina de DRX analice exclusivamente el material compuesto y posteriormente se analiza solo la resina de embutición, para ello se usa la otra cara de la muestra. La posibilidad de analizar el material mediante el análisis del polvo obtenido a partir de una pequeña porción del mismo arrancada de la muestra resulta imposible debido a su pequeño espesor. Así se obtiene el gráfico del análisis de la resina no conductora y de la muestra 4 (SPS), que se presentan a continuación:



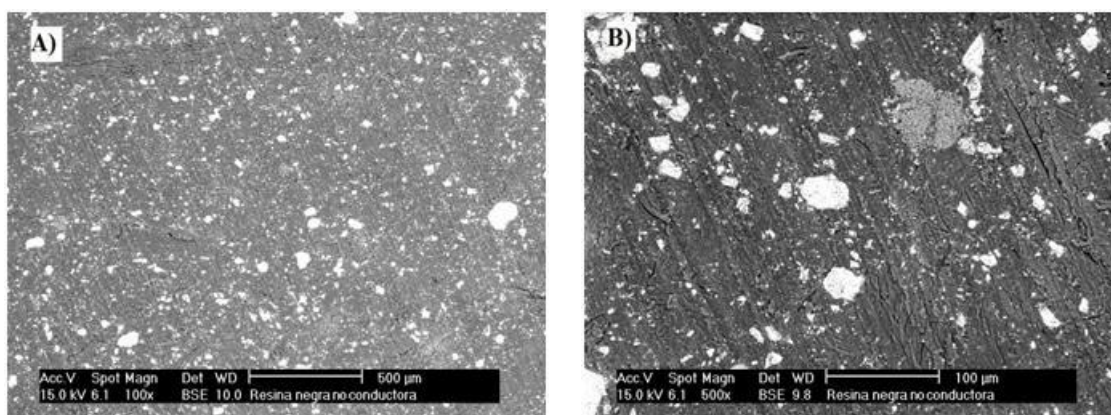
**Figura 5-1** Difractograma de los resultados superpuestos obtenidos de la resina de embutición y de la muestra 4 (SPS)

Como puede observarse, el espectro obtenido para ambos materiales coincide en múltiples puntos, lo que dificulta mucho su análisis. El programa de ordenador X'Pert High-Score estima como mejores candidatos los dos siguientes compuestos el  $\text{Ca}_4\text{O}_{10}\text{Ti}_3$  (Figura 5-1 (A)) y el  $\text{Ca}(\text{CO}_3)$  (Figura 5-1 (B)), sin embargo puesto que con los resultados obtenidos no se puede llegar a ninguna conclusión y en base a la ficha de la calcita se decide ampliar el parámetro  $2\theta$  desde los  $27^\circ$ . De esta forma el resultado obtenido es el siguiente:



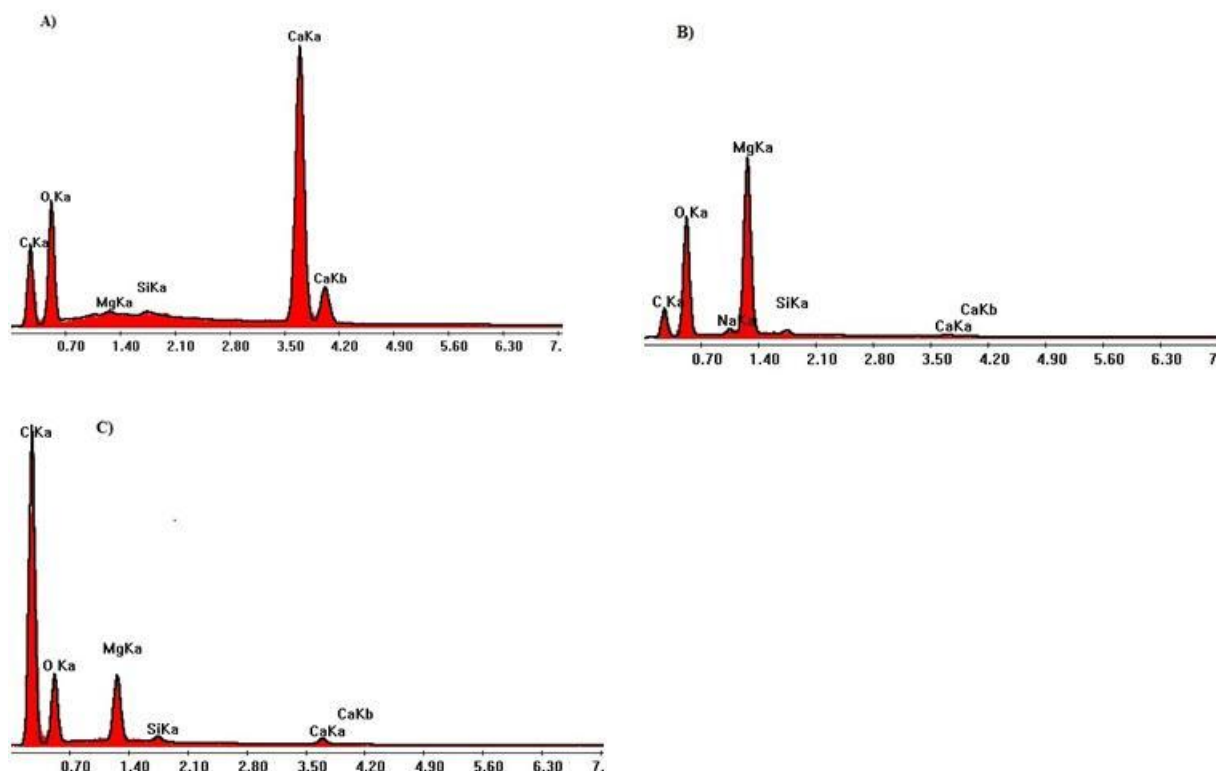
**Figura 5-2** Difractograma de la resina de embutición ampliando el rango de 2θ

El resultado obtenido que se muestra sobre estas líneas se ajusta perfectamente al patrón dado por la ficha correspondiente a la calcita ( $\text{CaCO}_3$ ). No obstante, se realiza un análisis adicional por EDS-EDAX en el SEM para corroborar los resultados anteriores. A continuación se muestran los resultados obtenidos, primero las fotografías tomadas y luego los análisis semicuantitativos realizados.



**Figura 5-3** Fotografías de la resina de embutición tomadas en BSE a A) 100 y B) 500 aumentos y 15 kV

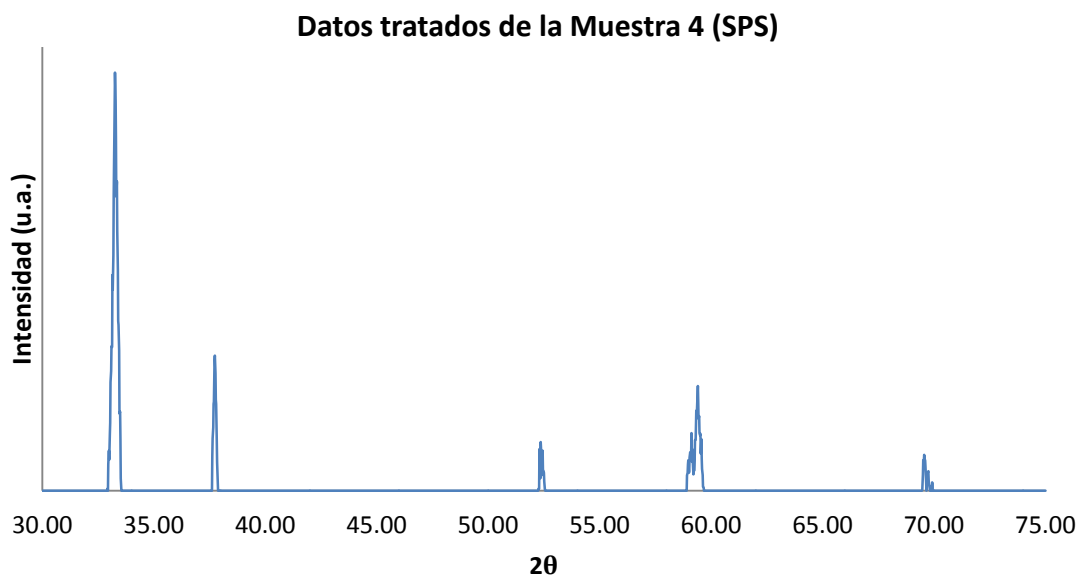
Como se puede apreciar la resina está formada por varios compuestos, hechos que confirmaran los siguientes análisis semicuantitativos:



**Figura 5-4** Resultados de los análisis por EDS de A) puntos blancos, B) punto gris y C) zona negra

Estos resultados ponen de manifiesto que la resina es calcita. En cuanto a los pequeños picos de Si y Na, probablemente el primero proviene del propio papel de lija y el segundo de los restos, a pesar de haber sido lavado tras cada utilización, de anteriores operaciones de limpieza de las superficies del material compuesto. A tenor de los resultados del gráfico B el punto gris detectado en la Figura 5-3 (B) debe ser  $MgO_2$ . Sin embargo este compuesto no ha sido detectado en el DRX de ninguna de las formas posibles, Mg puro o combinado con O. Además puesto que tampoco puede ser parte del material compuesto estudiado y la cantidad que se presenta en el análisis C) es mínima, se ha llegado a la conclusión de que se trata de una contaminación que solo afecta a esa cara de la probeta. Se piensa que dichas impurezas seguramente se deban a la manipulación que se hiciese en la Universidad de Cracovia o el laboratorio que las fabricó originalmente.

Por otro lado, con el fin de intentar analizar solo el material compuesto, se han tratado los datos obtenidos. Esto ha consistido en restar a los datos adquiridos de la muestra 4 de SPS los de la resina no conductora y hacer cero aquellos valores que fuesen negativos tras esta operación. Así el resultado obtenido es el que se muestra en la Figura 5-5.



**Figura 5-5** Difractograma de la muestra 4 (SPS) obtenido tras el tratamiento de los datos

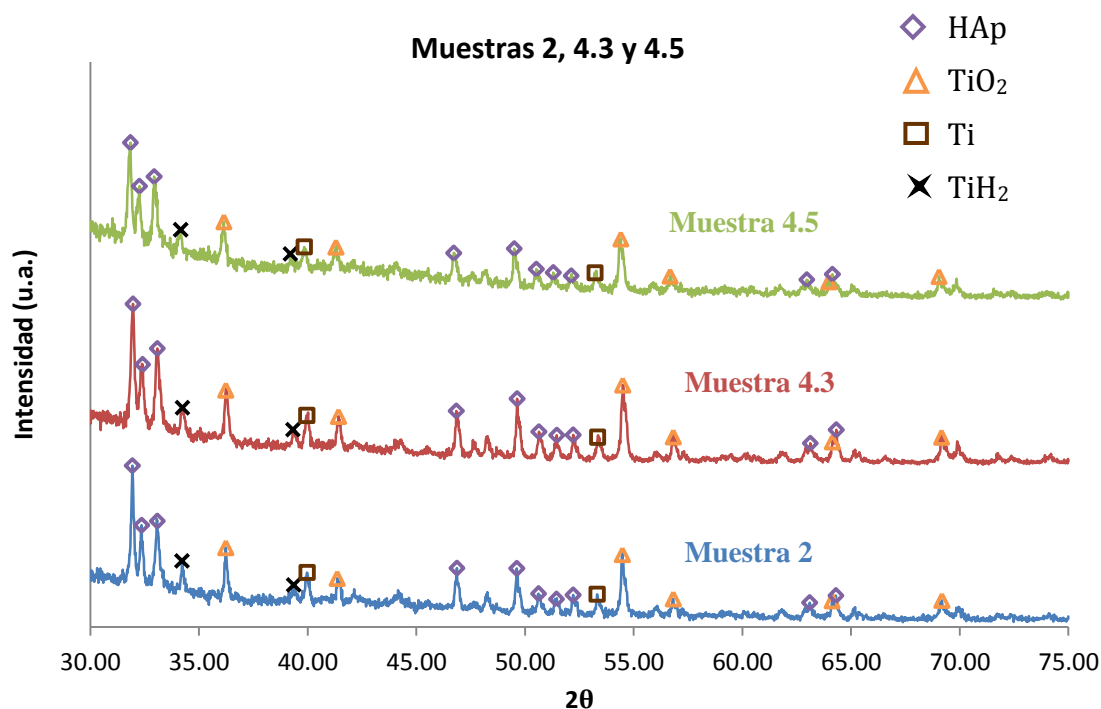
Tras el análisis de este diagrama no se consigue determinar ningún patrón con el que se corresponda, ya que algunos de los picos coinciden con varios patrones y faltan otros para poder descartar alguno de ellos. Se supone que el ruido introducido por la resina de embutición, parecida al material de estudio, hace imposible la determinación de este.

Por todo lo anterior expuesto se concluye que con las muestras disponibles y las técnicas utilizadas no se puede caracterizar químicamente este material compuesto. En consecuencia el estudio de la muestra 3 (SPS) no se realiza ya que carece de sentido llevarlo a cabo.

### 5.1.2. Muestras TSS

Para el estudio de este tipo de muestras no es necesario estudiar la resina de embutición, ya que por su naturaleza resulta prácticamente transparente para los rayos X, por lo que solo se analiza el material compuesto. Así los datos obtenidos de los tres ejemplares se representan conjuntamente en la Figura 5-6.

Al observar la Figura 5-6 se observa que los tres difractogramas obtenidos son prácticamente idénticos. Aunque se pueden apreciar algunas diferencias en la línea base y desplazamientos con respecto al parámetro  $2\theta$  resultan insignificantes como para indicar que se trata de sustancias diferentes. Seguramente estas vienen motivadas por las desigualdades de alturas que presentan las muestras embutidas o por no encontrarse en el mismo punto exacto al colocarlas en la máquina de DRX.



**Figura 5-6** Difractograma de las muestras 2, 4.3 y 4.5 indicando los componentes identificados

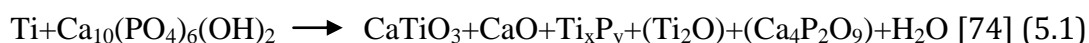
Tras el estudio de los datos obtenidos y representados en la Figura 5-6 se llega a la conclusión de que los tres materiales compuestos resultan ser idénticos. Asimismo este hecho se corrobora al realizar la identificación de los picos de las tres muestras.

De los resultados se extrae que se cuenta con HAp,  $\text{TiO}_2$  y en menor medida de Ti y  $\text{TiH}_2$ . La presencia de la HAp es lógica, pues se trata de uno de los elementos del material compuesto, pero la del Ti es menor de la esperada, ya que el objetivo durante el proceso de síntesis era que el Ti y el H se disociarían y se quedase solo el metal. Por lo tanto es necesario explicar la presencia tanto del  $\text{TiH}_2$  como del  $\text{TiO}_2$ , que en un principio no se esperaban.

Para explicar la presencia de los productos anteriores, se barajan dos hipótesis. La primera es que el  $\text{TiH}_2$  inicial no se descompone por completo durante el proceso de fabricación debido a la temperatura de sinterización y que el  $\text{TiO}_2$  es el resultado de la reacción del Ti con el O proveniente del mismo material. La segunda hipótesis plantea la posibilidad de que el  $\text{TiO}_2$  se obtiene por la reacción del Ti con el O proveniente del propio proceso de fabricación y que este afecte a su vez a la descomposición del Ti.

En cuanto a la primera hipótesis en primer lugar se tratará la procedencia del O y en segundo lugar la del H. En estos dos artículos [63] y [74] se explica que la HAp pura se descompone según dos mecanismos, deshidroxilación (perdida de algún grupo  $\text{OH}^-$ ) y descomposición (sustitución grupos  $\text{OH}^-$  por otro elemento), y

que aunque estos están presentes desde bajas temperaturas no son realmente importantes hasta temperaturas mayores de 1200°C. En cuando al compuesto HAp/Ti, se dice que la presencia de este último acelera el fenómeno de deshidroxilación produciéndose a solo 900°C la descomposición completa de la HAp durante la sinterización en una atmosfera de Argón. Se aclara que estos fenómenos dependen de muchos factores pero los más importantes son los ratios HAp/Ti y las temperaturas de sinterización. Asimismo se indica que los valores de estos parámetros a los cuales se producen los fenómenos citados varían de caso a caso. Las reacciones que tienen lugar en estos sucesos son complejas; con el fin de ilustrar este proceso se presenta la ecuación siguiente:



Por otro lado se establece que en estos casos el aumento de la relación Ca/P es un indicativo de que se están originando las reacciones antes citadas, así en la Tabla 5-1 se presenta un resumen de estos cocientes en la que se puede observar que las relaciones son prácticamente iguales a las estequiométricas. Para obtener estos datos se ha aprovechado el análisis inicial de EDS-EDAX que se hace a las muestras para el estudio de bioactividad, así cada una de estas relaciones se obtiene haciendo la media de los tres ejemplares de que se dispone para cada tipo.

**Tabla 5-1** Resumen de ratio Ca/P calculado a partir del análisis EDS del SEM

	Valor estequiom.	Muestra 2	Muestra 4.3	Muestra 4.5
Ratio Ca/P	1.67	1.64	1.68	1.63

Según los artículos anteriormente citados, los compuestos obtenidos (Ec. 5.1) y los fenómenos que se producen hacen que la técnica de DRX resulta no ser suficiente para poder distinguir entre los productos que contienen Ca y P ni la descomposición de la HAp, ya que los patrones de difracción se superponen en diversos puntos. No obstante al combinar los resultados obtenidos se puede concluir que gracias a las técnicas de fabricación las reacciones descritas no se han producido o apenas son importantes; esto se basa en los siguientes hechos:

- El ajuste de los patrones propuestos en las pruebas de DRX es muy alto con lo que no quedan especies relevantes sin identificar.
- Los ratios Ca/P son prácticamente iguales a los estequiométricos lo que implica que las reacciones de descomposición no se producen y respalda el punto anterior.

En cuanto a la descomposición del  $\text{TiH}_2$  diversos artículos consultados [75] [76] [77] indican que la temperatura a la que comienza el proceso de disociación del  $\text{TiH}_2$  se sitúa entre los 380°C y los 450°C y para una reacción completa hablan





de duraciones entre 8 y 20 minutos. Así que puesto que durante la sinterización se trabaja con temperaturas y tiempos muy superiores se puede concluir que el  $\text{TiH}_2$  se debería haber descompuesto por completo.

A tenor de todo lo explicado hasta ahora, la primera hipótesis queda rechazada y por descarte solo resta la segunda. De esta forma lo que se considera que ha ocurrido es que probablemente durante la compactación se ha retenido aire de la atmosfera adyacente; dado que no se conoce la humedad relativa se presupone que esta no será cero por lo que también contendrá agua, también es posible que algo de aire quedase en contacto con las muestras durante la sinterización. Así durante la etapa de calentamiento el O habrá ido oxidando el Ti a medida que este se disociaba del H, debido a la gran afinidad que tiene por el sobre todo a altas temperaturas ( $>700^\circ\text{C}$ ). Según se indica en los artículos [78] y [79] la oxidación del Ti puede retrasar la disociación del H. Aunque en teoría con una atmosfera protectora de Ar durante la sinterización esto no debería pasar.

La deducción hecha resulta lógica ya que para evitar posibles contaminaciones de la atmósfera circundante durante los procesos de fabricación es imprescindible trabajar en condiciones controladas de forma permanente y extremar las medidas de precaución, pero dado el proceso utilizado y las máquinas disponibles esto resulta inviable.

Por lo tanto, la conclusión final es que las muestras procesadas por la vía TSS no contienen HAp descompuesta en cantidades relevantes y que gracias a la técnica utilizada esto se consigue incluso con temperaturas de  $900^\circ\text{C}$ . Pero se ha detectado una posible contaminación por elementos de la atmósfera adyacente, foráneos al material compuesto que han alterado la disociación del  $\text{TiH}_2$ .

## **5.2. Estudio del comportamiento del biocomposite HAp/Ti en un SBF**

En este apartado se presentarán y analizarán las imágenes así como los datos numéricos obtenidos de las diferentes experiencias realizadas, con los cuales se tratará de estudiar la bioactividad que poseen las muestras de las que se dispone, para ello:

- Se mostrarán las imágenes obtenidas en el SEM en los dos modos disponibles para cada uno de los tiempos de exposición al SBF y poder así observar la evolución que sufren las muestras.
- Posteriormente se mostraran los datos obtenidos de mayor interés para este estudio así como algunos detalles de las imágenes.
- Se analizarán los datos más relevantes obtenidos con este estudio.
- Se discutirán los resultados de cada muestra.
- Finalmente se presentarán todos los resultados obtenidos de los análisis por EDS-EDAX en una misma gráfica, distinguiendo entre muestras SPS y TSS, para poder estudiarlas en conjunto y comparar sus comportamientos.

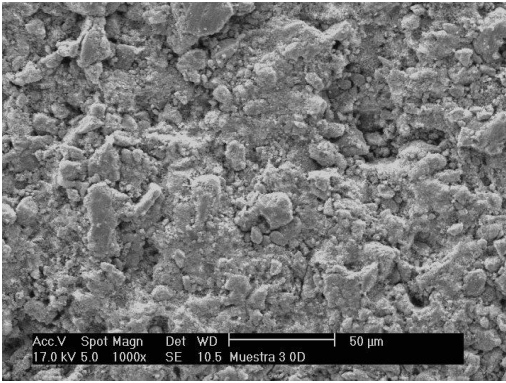
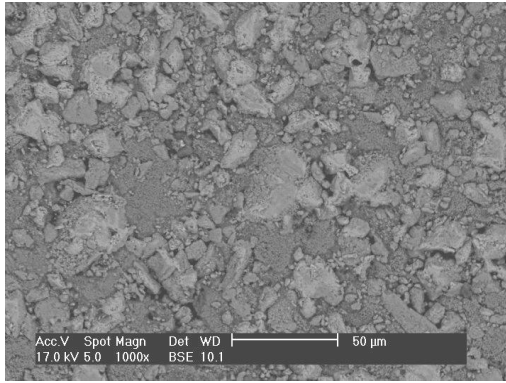
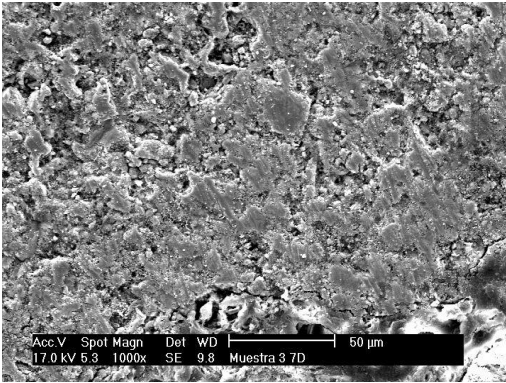
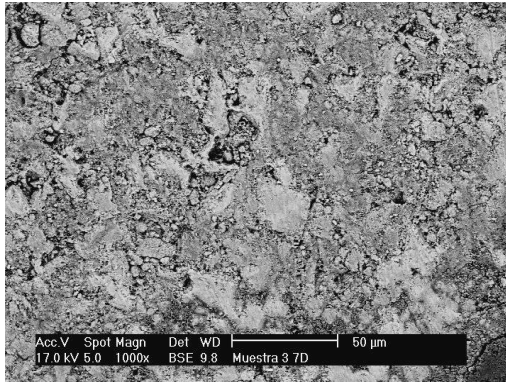
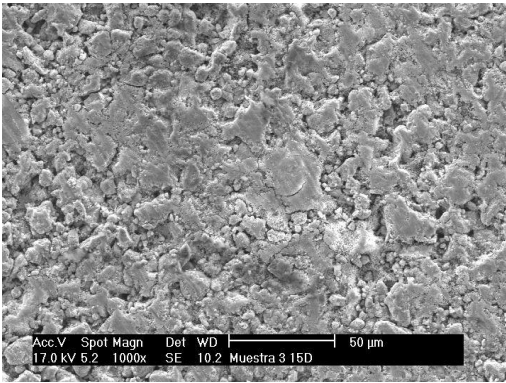
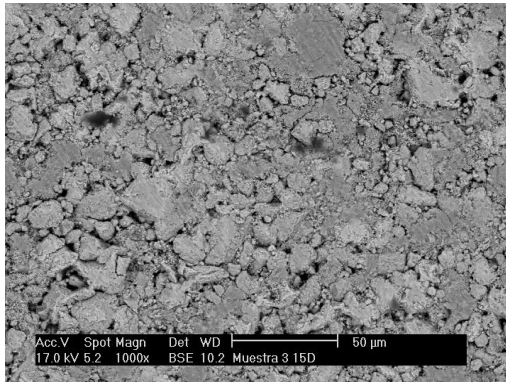
Con carácter general se considerará que el material compuesto muestra signos de bioactividad, y por lo tanto el resultado obtenido es positivo, cuando las concentraciones de Ca aumenten a medida que se aumenta el tiempo de exposición al SBF y que el ratio Ca/P tiene el mismo comportamiento. Asimismo resulta importante recordar que el hecho de que cualquiera de las muestras con los que se experimenta ofrezca un resultado negativo en este estudio no implica que no sean biocompatibles.

### 5.2.1. Muestras SPS

- Muestra 3:

En la tabla siguiente se muestran las imágenes obtenidas con 1000 aumentos en los modos SE y BSE para cada uno de los ensayos realizadas.

**Tabla 5-2** Imágenes SEM para material compuesto tipo 3

Muestra 3 (SPS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 0d		
t = 7d		
t = 15d		





Muestra 3 (SPS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 30d		

Al observar las fotografías tomadas de la muestra 3 se puede apreciar claramente como su superficie apenas varía a lo largo del tiempo. A continuación se mostrará la fotografía en modo BSE y el análisis por EDS-EDAX que se realiza a 6500 aumentos para identificar los compuestos que aparecen en las imágenes:

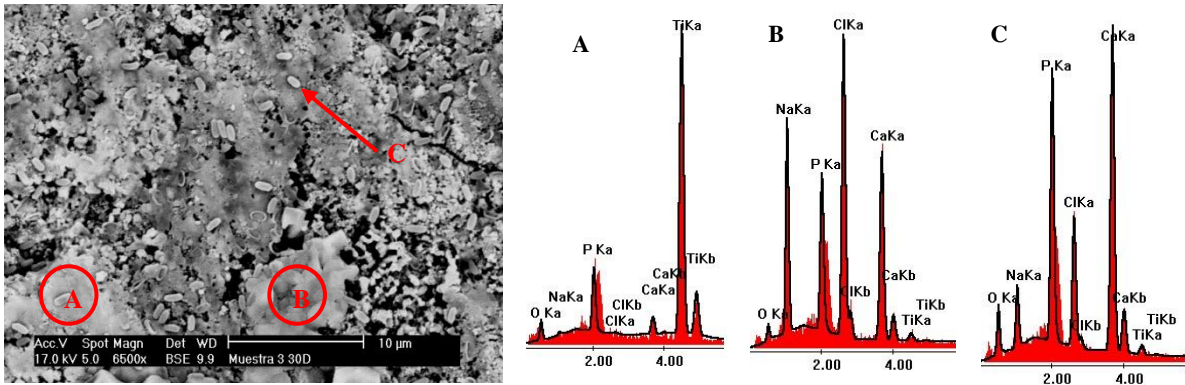


Figura 5-7 Zoom 6500x (BSE) a 30 días de la muestra 3 y análisis semi-cuantitativos

Los resultados numéricos obtenidos para los análisis de las Figura 5-7 son los que se recogen en la siguiente tabla en la que se puede observar como la zona más clara contiene un alto nivel de Ti mientras las zonas más oscuras contienen cantidades altas de Ca y P, además la relación Ca/P es menor que la inicial para esta muestra, 4.75, lo que deja claro que tampoco se ha depositado Ca.

**Tabla 5-3** Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de la Figura 5-7

Figura nº	5-7		
	A	B	C
%Wt O	19.23	8.38	23.89
%Wt Na	0.7	22.23	6.78
%Wt P	6.35	11.73	17.77
%Wt Cl	0.27	30.3	11.76
%Wt Ca	2.56	25.69	38.2
%Wt Ti	70.89	1.67	1.6
Ratio Ca/P	0.40	2.19	2.15

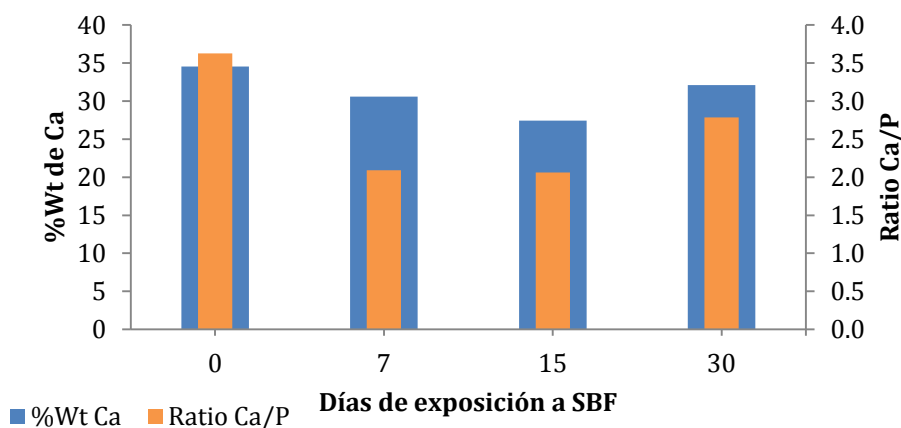
Para llevar a cabo el estudio del comportamiento del material compuesto se ha seguido la cantidad de los elementos de control, ya indicados en apartados anteriores. Para ello se realizan análisis por EDS-EDAX a 1000 aumentos (Tabla 5-4). A partir de los datos obtenidos de las dos experiencias llevadas a cabo se ha calculado la media y el ratio Ca/P, en la Tabla 5-4 se resumen los resultados.

**Tabla 5-4** Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P de la muestra 3

Nºdías exposición	0	7	15	30
%Wt O	24.06	22.88	27.68	24.81
%Wt Na	0.39	0.11	1.89	2.53
%Wt P	7.96	11.47	10.27	9.31
%Wt Cl	0.35	0.76	1.42	1.51
%Wt Ca	34.54	30.60	27.43	32.08
%Wt Ti	33.07	34.19	31.32	29.78
Ratio Ca/P	3.63	2.09	2.06	2.78

Al observar los datos de la tabla anterior, se puede concluir, según los criterios establecidos, que el material compuesto de la muestra 3 no presenta signos de bioactividad, por el contrario parece que a medida que pasa el tiempo su HAp se va disolviendo. No obstante, parece que para el último tiempo de exposición se recupera ligeramente al aumentar tanto el %Wt de Ca como el ratio Ca/P. Para que se pueda apreciar mejor se representa la variación del Ca y del ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo.

### Valores medios Muestra 3



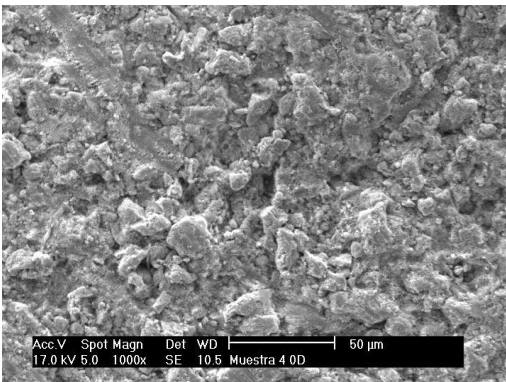
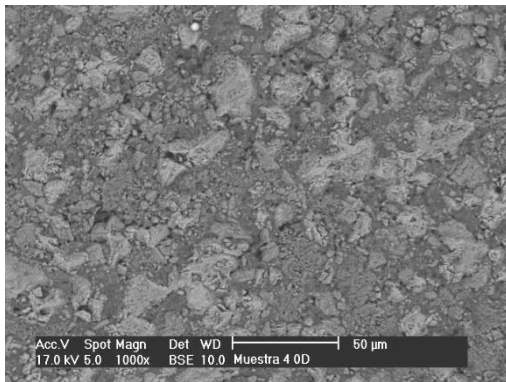
**Figura 5-8** Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo

Al observar la figura anterior se puede ver como parece que la concentración de Ca disminuye hasta un punto y luego empieza a crecer de nuevo, este fenómeno se tratará de explicar al final de la presente sección.

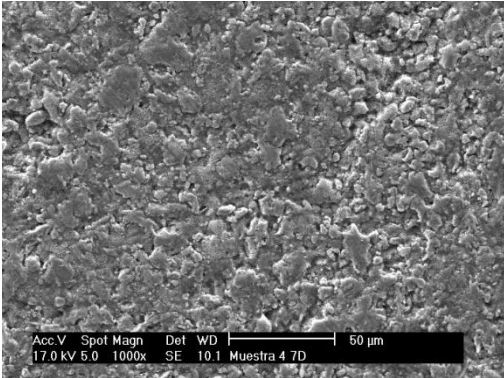
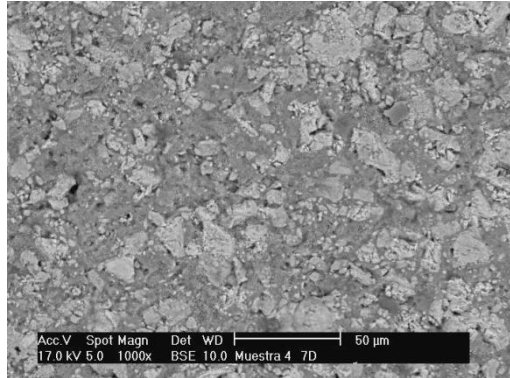
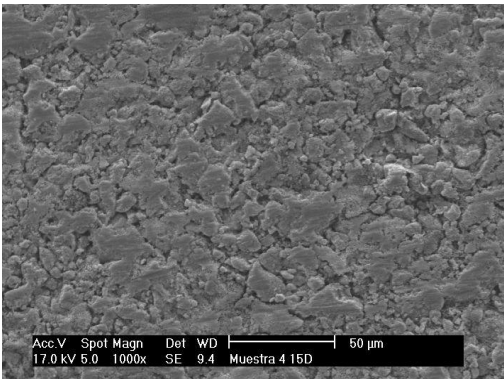
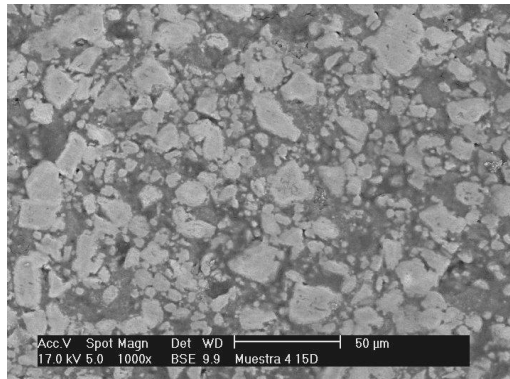
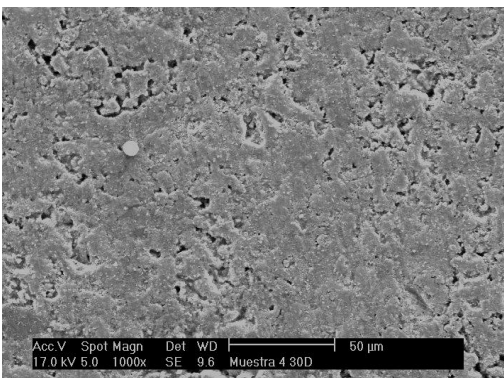
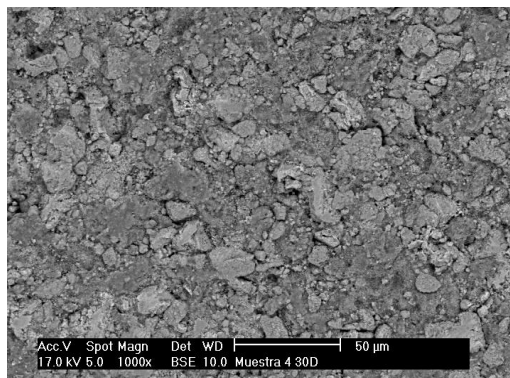
- Muestra 4:

En la tabla siguiente se muestran las imágenes obtenidas para 1000 aumentos en los modos SE y BSE para cada una de las experiencias realizadas.

**Tabla 5-5** Imágenes SEM para material compuesto tipo 4

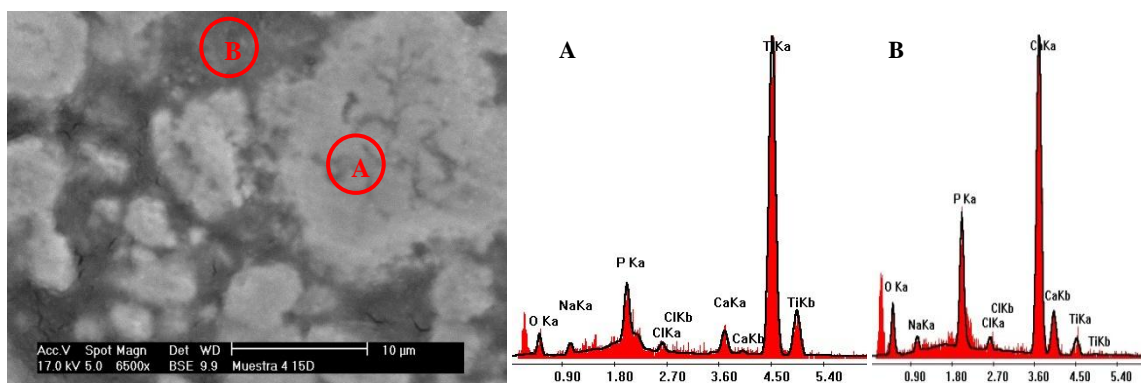
Muestra 4 (SPS)	TIPO DETECTORES	
	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 0d		



Muestra 4 (SPS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 7d		
t = 15d		
t = 30d		

Al igual que para la muestra 3, las fotografías tomadas para la muestra 4 evidencian que no existe variación de las superficies del material compuesto. No obstante, en las imágenes en modo BSE sí que se pueden apreciar de forma clara dos compuestos. A continuación se mostrará la fotografía en modo BSE y el análisis por EDS-EDAX que se realiza a 6500 aumentos para identificar compuestos que aparecen en las imágenes:





**Figura 5-9** Zoom 6500x (BSE) a 15 días de la muestra 4 y análisis semi-cuantitativos (A y B)

Los resultados numéricos obtenidos para los análisis de la Figura 5-9 son los que se recogen en la Tabla 5-6. En dicha tabla que se puede observar como la zona más clara contiene un alto nivel de Ti mientras las zonas más oscuras contienen cantidades altas de Ca y P. Además la relación Ca/P es mayor que la inicial, en particular para esta muestra era de 2.95, lo que podría hacer pensar que se ha depositado Ca, pero para poder deducir esto hay que estudiar el comportamiento general a menos aumentos.

**Tabla 5-6** Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de la Figura 5-9

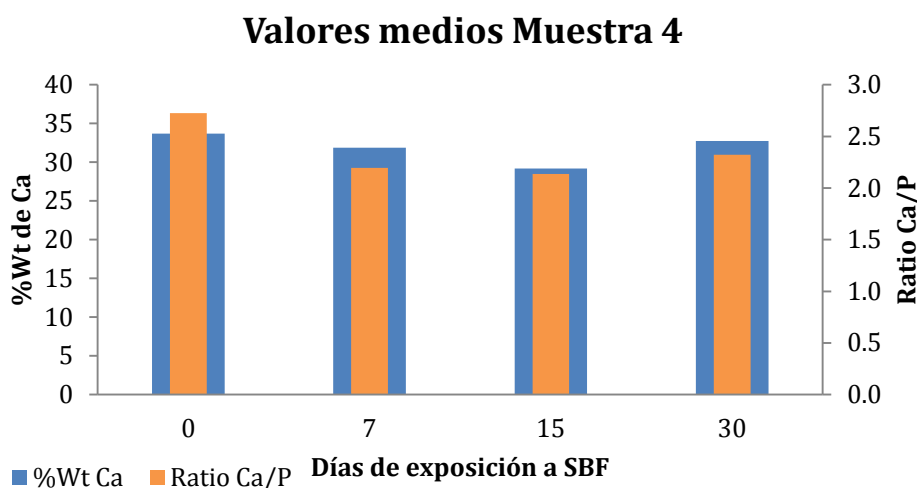
Figura nº	5-9	
	A	B
%Wt O	18.96	33.22
%Wt Na	2.21	2.34
%Wt P	5.15	11.37
%Wt Cl	1.2	1.41
%Wt Ca	3.01	47.55
%Wt Ti	69.47	4.11
Ratio Ca/P	0.45	3.24

Para llevar a cabo el estudio del comportamiento del material compuesto se ha seguido la cantidad de los elementos de control, ya indicados en apartados anteriores. Para ello se realizan análisis por EDS-EDAX a 1000 aumentos. A partir de los datos obtenidos de las dos experiencias llevadas a cabo se ha calculado la media y el ratio Ca/P, que se resumen en la tabla siguiente.

**Tabla 5-7** Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P de la muestra 4

Nºdías exposición	0	7	15	30
%Wt O	26.02	21.38	23.46	23.55
%Wt Na	1.48	1.71	1.58	0.53
%Wt P	9.64	11.39	10.65	11.42
%Wt Cl	0.36	1.31	0.59	0.21
%Wt Ca	33.70	31.89	29.20	32.76
%Wt Ti	29.73	32.34	34.53	31.54
Ratio Ca/P	2.73	2.19	2.14	2.32

Al examinar los datos de la Tabla 5-7 se puede ver que la presencia del Ca disminuye ligeramente con el tiempo hasta los 15 días y a partir de los 30 días parece que éste se aproxima a la cantidad inicial, tal y como se puede observar en la Figura 5-10. Además el ratio Ca/P es siempre menor que el inicial lo que en principio indica que no se está depositando Ca proveniente del SBF.



**Figura 5-10** Media del % Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo

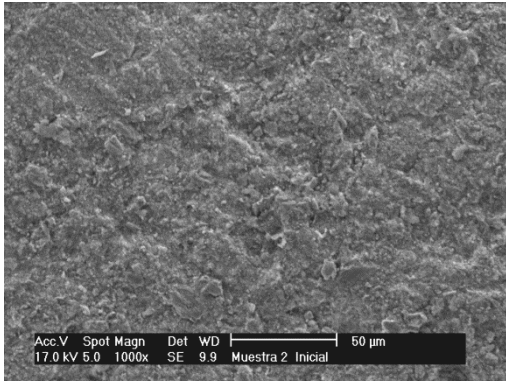
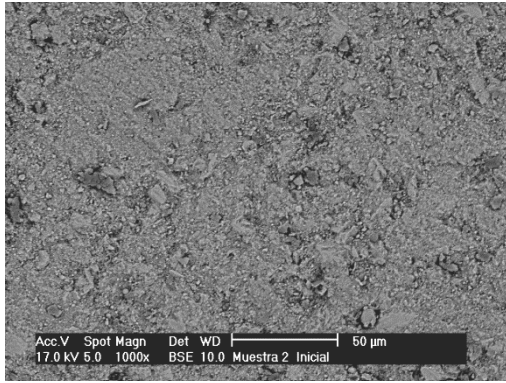
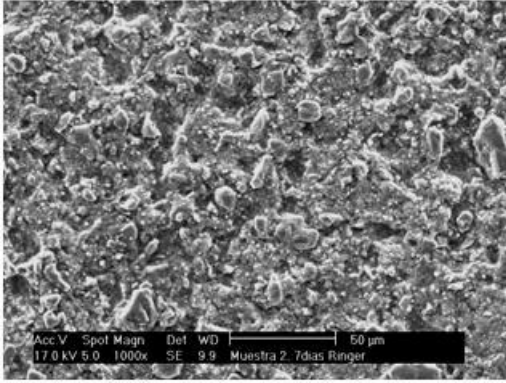
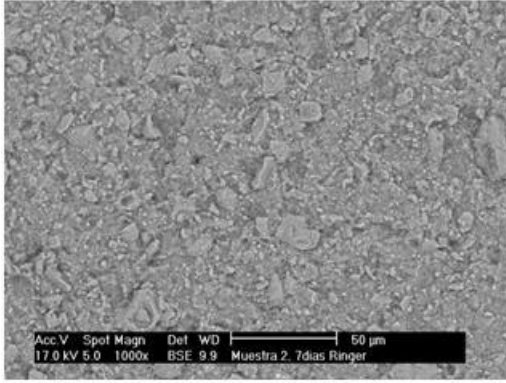
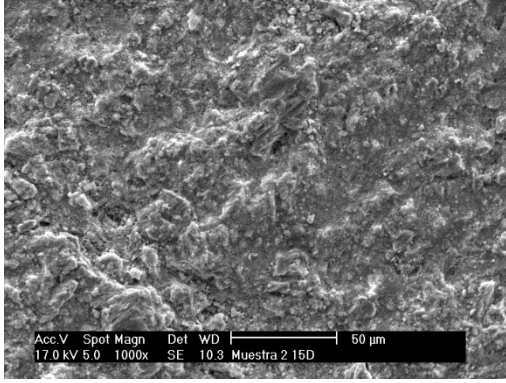
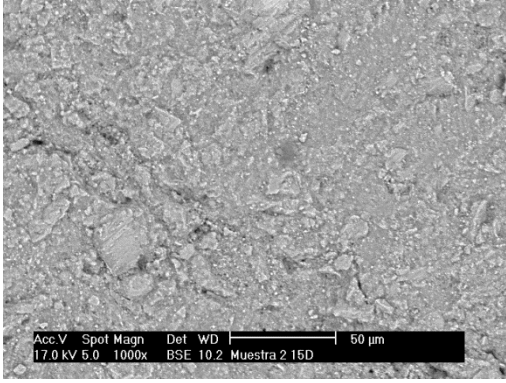
Al analizar todos los datos presentados sobre la muestra 4, se puede concluir que no presenta signos de bioactividad por lo que se concluye que este material no es bioactivo.

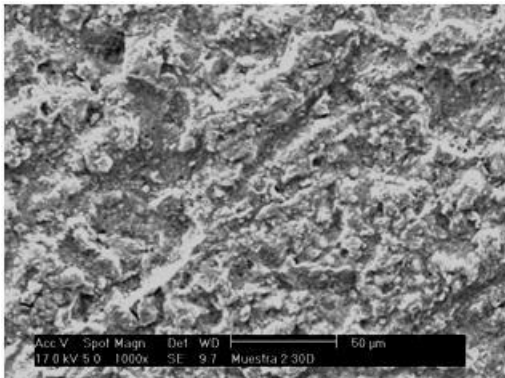
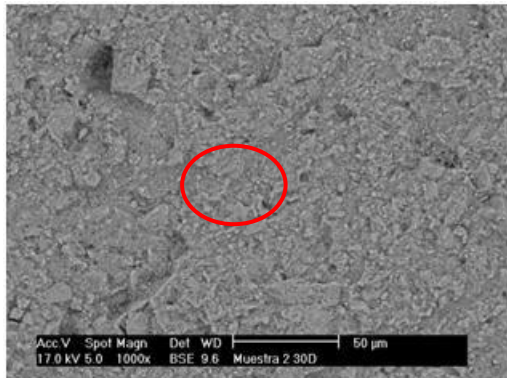
### 5.2.2. Muestras TSS

- Muestra 2:

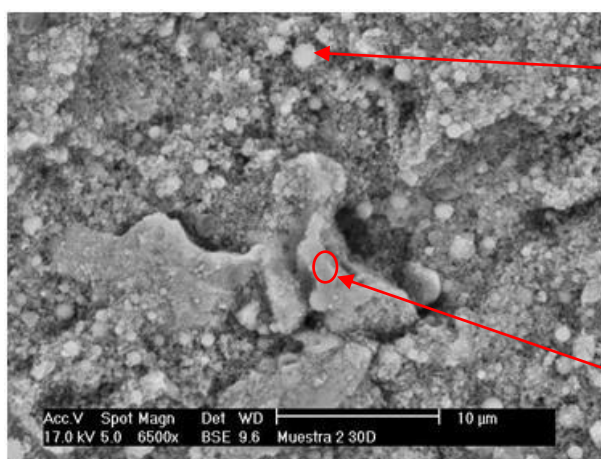
En la tabla siguiente se muestran las imágenes obtenidas para 1000 aumentos en los modos SE y BSE para cada una de las experiencias realizadas.

**Tabla 5-8.** Imágenes SEM para material compuesto 2

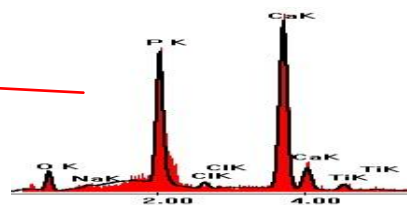
Muestra 2 (TSS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 0d		
t = 7d		
t = 15d		

Muestra 2 (TSS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 30d		

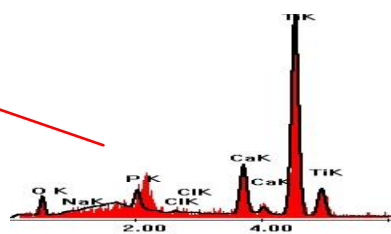
En las fotografías de la muestra 2, se puede observar como la topografía es inicialmente bastante regular y sin grandes desniveles y como a medida que se realizan experiencias más largas esta se vuelve más accidentada. Así mismo en el modo BSE se aprecian como a medida que aumenta el tiempo de exposición aparece una cantidad mayor de puntos blancos, que como se puede comprobar en los resultados obtenidos (Tabla 5-8) contienen en su mayoría Ca. A continuación se mostrará la fotografía en modo BSE y el análisis por EDS-EDAX que se realiza a 6500 aumentos para identificar compuestos que aparecen en las imágenes:



**Figura 5-12** Zoom 6500x a 30 días de la muestra 2



**Figura 5-11** Análisis semicuantitativo a 6500 aumentos 1



**Figura 5-13** Análisis semicuantitativo a 6500 aumentos 2

Los resultados numéricos obtenidos para los análisis de las Figura 5-11 y Figura 5-13 son los que se recogen en la siguiente tabla en la que se puede



observar cómo la zona más brillante contiene un nivel de Ca mayor, además la relación Ca/P es mayor que la inicial lo que indica que se ha depositado Ca.

**Tabla 5-9** Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de las Figuras 5-11 y 5-13

Figura nº	5-11	5-13
%Wt O	26,36	24,89
%Wt Na	0,55	0
%Wt P	21,59	2,59
%Wt Cl	1,31	0,34
%Wt Ca	47,42	9,25
%Wt Ti	2,77	62,93
Ratio Ca/P	1.7	2.77

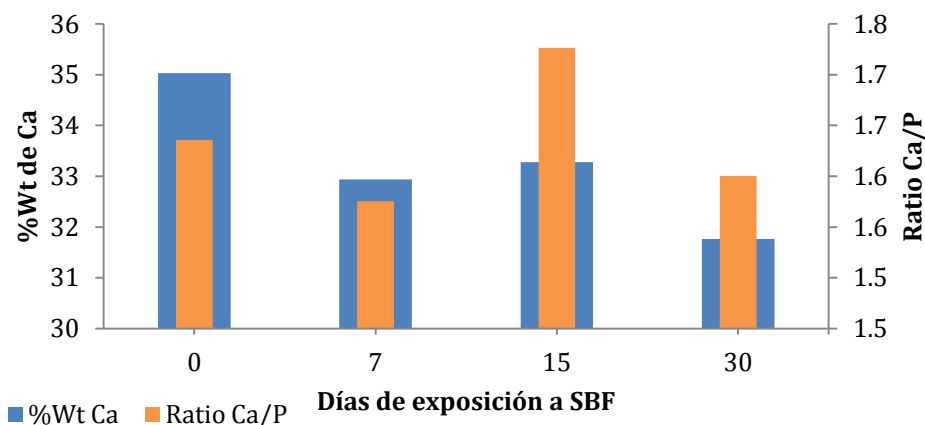
Para llevar a cabo el estudio del comportamiento del material compuesto se ha seguido la cantidad de los elementos de control, ya indicados en apartados anteriores. Para ello se realizan análisis por EDS-EDAX a 1000 aumentos. A partir de los datos obtenidos de cada una de las tres experiencias llevadas a cabo se ha realizado la media y en la Tabla 5-10 se resumen los resultados y también se muestra el ratio Ca/P calculado.

**Tabla 5-10** Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P

Nº días exposición	0	7	15	30
%Wt O	34,85	30,01	29,67	22,29
%Wt Na	0,34	1,99	1,24	7,59
%Wt P	16,81	16,20	14,94	15,38
%Wt Cl	0,76	1,71	1,21	9,89
%Wt Ca	35,03	32,94	33,28	31,76
%Wt Ti	12,57	17,15	19,66	13,08
Ratio Ca/P	1,64	1,58	1,73	1,60

En la tabla anterior el elemento que resulta más interesante para nuestro estudio es el Ca, al representarlo gráficamente (Figura 5-14) se puede observar como la cantidad de este elemento disminuye no sin antes sufrir un pequeño repunte que en cualquier caso no supera a la cantidad inicial. Asimismo se puede apreciar que la relación Ca/P no sufre grandes variaciones, al igual con el Ca.

### Valores medios Muestra 2

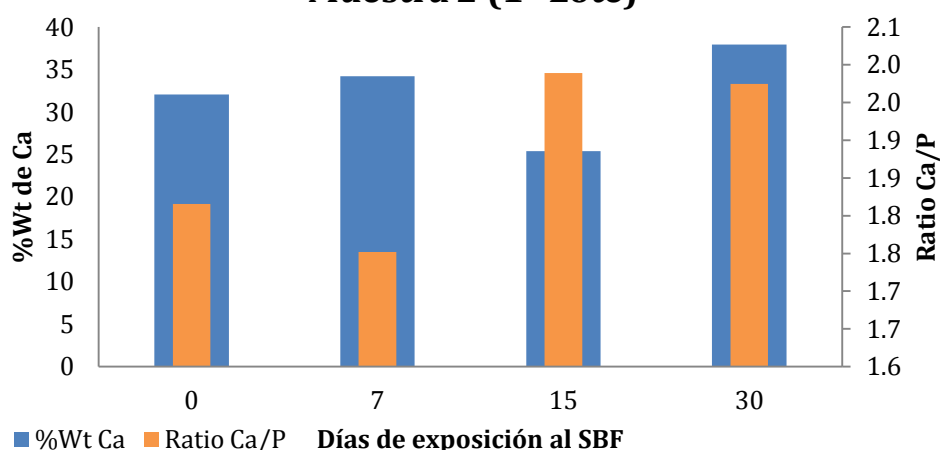


**Figura 5-14** Media del % Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo

A primera vista según estos resultados la conclusión más lógica es pensar que esta muestra resulta no ser bioactiva, no obstante, esto no implica que no sea biocompatible ya que la bibliografía nos asegura que ambos materiales combinados o por separado resultan ser aceptados por el cuerpo humano. Si se estudia la relación Ca/P se puede ver cómo va aumentando, para en el último tiempo de exposición disminuir e igualarse prácticamente a la inicial.

Resulta importante destacar que uno de los tres ejemplares de la muestra 2, perteneciente al primer lote, se ha comportado de forma totalmente opuesta a la anteriormente presentada. A continuación se muestra un gráfico con la evolución de su concentración de Ca y ratio Ca/P así como una tabla con los datos numéricos para el P, el Ca y el ratio entre estos dos elementos.

### Muestra 2 (1º Lote)



**Figura 5-15** Media del % Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo de la muestra 2 (1º lote)

Al examinar tanto la Figura 5-14 como la Tabla 5-11 se aprecia claramente como la concentración de Ca aumenta con el paso de tiempo de exposición. Ocurre lo mismo con la relación Ca/P, lo cual es importante porque es un claro indicativo de que el aumento de la concentración de Ca no es una casualidad sino que realmente se está depositando Ca procedente del SBF. Este hecho se puede confirmar visualmente al observar las fotografías de la muestra del primer lote en la Tabla 5-8 en la que se pueden ver los depósitos de Ca.

**Tabla 5-11** Valor de la concentración de Ca y P en los diferentes periodos de exposición

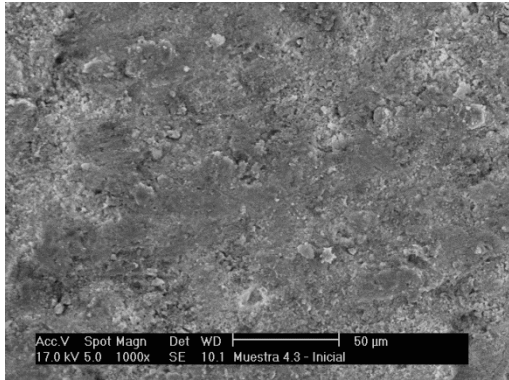
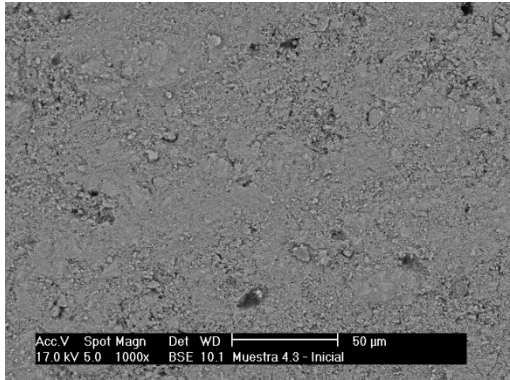
Días exp.	0	7	15	30
%Wt P	13.69	15.13	9.89	14.89
%Wt Ca	32.07	34.20	25.38	37.94
Ratio Ca/P	1.82	1.75	1.99	1.97

De nuevo, como ya ha sucedido en alguna ocasión anterior, al observar todos los datos en su conjunto se puede valorar que, aunque los resultados numéricos no son todo lo concluyentes que se desearía al complementarlo con las fotografías y un análisis minucioso, lleva a pensar que este tipo de material compuesto puede ser un buen candidato desde el punto de vista de la bioactividad.

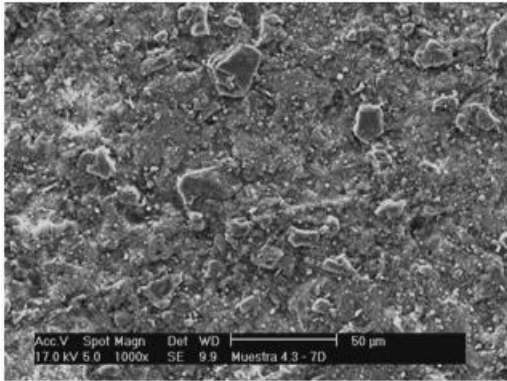
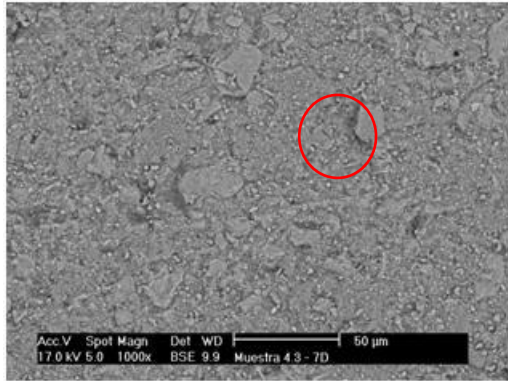
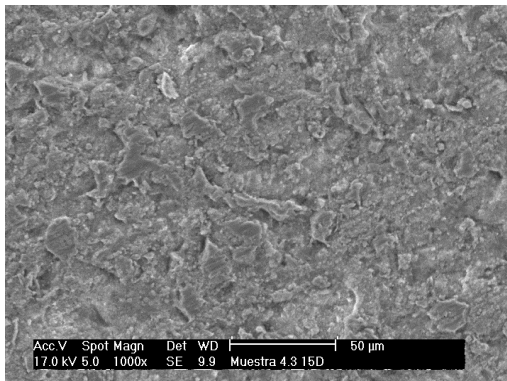
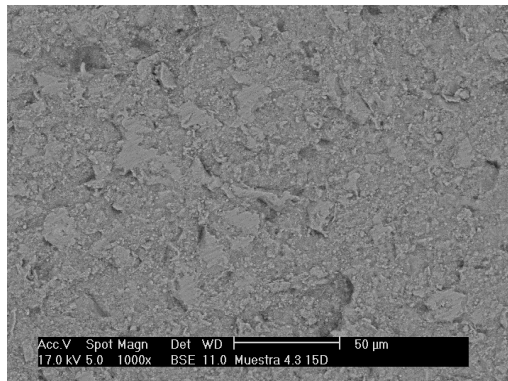
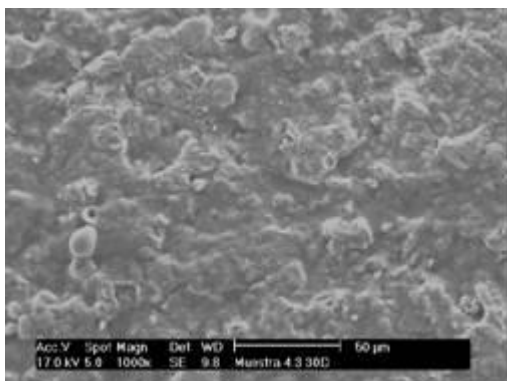
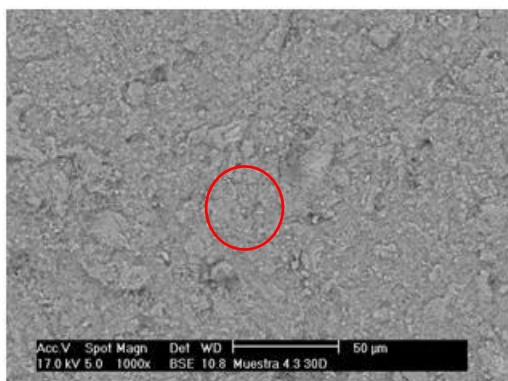
- Muestra 4.3:

En la tabla siguiente se muestran las imágenes obtenidas para 1000 aumentos en los modos SE y BSE para cada una de las experiencias realizadas.

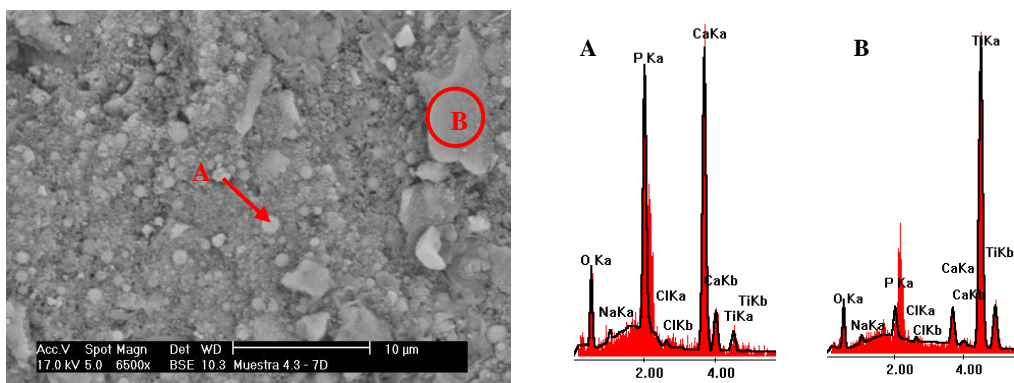
**Tabla 5-12** Imágenes SEM para el material compuesto 4.3

Muestra 4.3 (TSS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 0d		

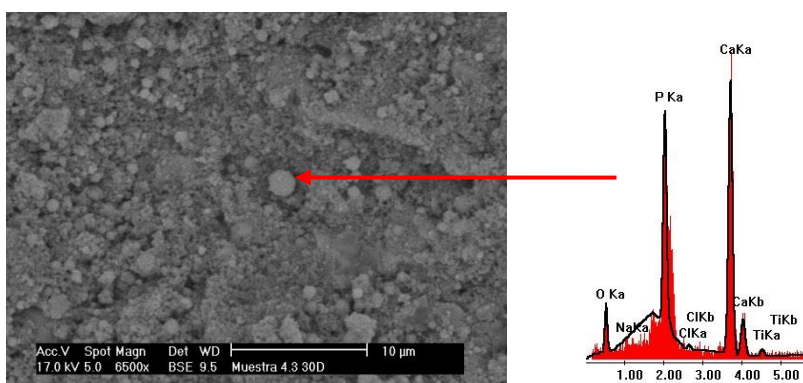


Muestra 4.3 (TSS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 7d		
t = 15d		
t = 30d		

En las fotografías de la muestra 4.3, se puede observar cómo la topografía es inicialmente bastante regular y sin grandes desniveles y cómo a medida que se realizan experiencias más largas ésta se vuelve más accidentada. En las fotografías BSE tomadas a la muestra 4.3 se puede observar cómo los puntos blancos se aprecian más claramente a los 7 y 30 días de exposición, es por ello que se mostrarán las fotografías tomadas a 6500 aumentos para estos dos intervalos y se darán los datos obtenidos por los análisis EDS-EDAX.



**Figura 5-16** Zoom 6500x (BSE) a 7 días de la muestra 4.3 y análisis semi-cuantitativos (A y B)



**Figura 5-17** Zoom 6500x (BSE) a 30 días de la muestra 4.3 y análisis semi-cuantitativo

Al examinar la Figura 5-16 y Figura 5-17 se puede comprobar cómo los puntos blancos que se apreciaban a 1000 aumentos están formados en su mayor parte por Ca y P, además al contrastarlo con la Tabla 5-13 se puede observar cómo a los 7 días el ratio Ca/P del detalle A es prácticamente igual al inicial, 1.55, y a los 30 días ese mismo detalle tiene una relación Ca/P de 1.72, lo que indica que se ha depositado Ca proveniente del SBF.

**Tabla 5-13** Resultados numéricos de los análisis semi-cuantitativo de las Figuras 5-17 y 5-18

Figura nº	5.17		5.18
	A	B	
%Wt O	21.42	20.52	33.98
%Wt Na	0	1.58	0
%Wt P	2.69	2.75	19.79
%Wt Cl	0.63	0.66	0.52
%Wt Ca	5.41	1.84	43.82
%Wt Ti	69.86	72.64	1.89
Ratio Ca/P	1.56	0.52	1.72

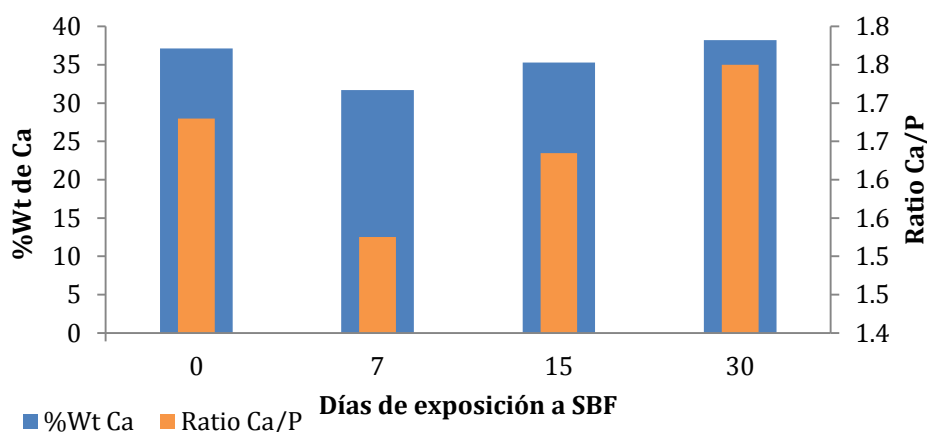
Para llevar a cabo el estudio del comportamiento del material compuesto se ha seguido la cantidad de los elementos de control, ya indicados en apartados anteriores. Para ello se realizan análisis por EDS-EDAX a 1000 aumentos. A partir de los datos obtenidos de cada una de las tres experiencias llevadas a cabo se ha realizado la media y en la Tabla 5-14 se resumen los resultados y también se muestra el ratio Ca/P calculado.

**Tabla 5-14** Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P

Nºdías exposición	0	7	15	30
%Wt O	32.36	31.07	26.93	26.61
%Wt Na	0	5.15	3.72	2.99
%Wt P	17.05	16.11	16.71	17.12
%Wt Cl	0.72	4.22	2.42	2.57
%Wt Ca	37.13	31.70	35.29	38.23
%Wt Ti	12.98	11.75	14.93	12.47
Ratio Ca/P	1.68	1.52	1.63	1.75

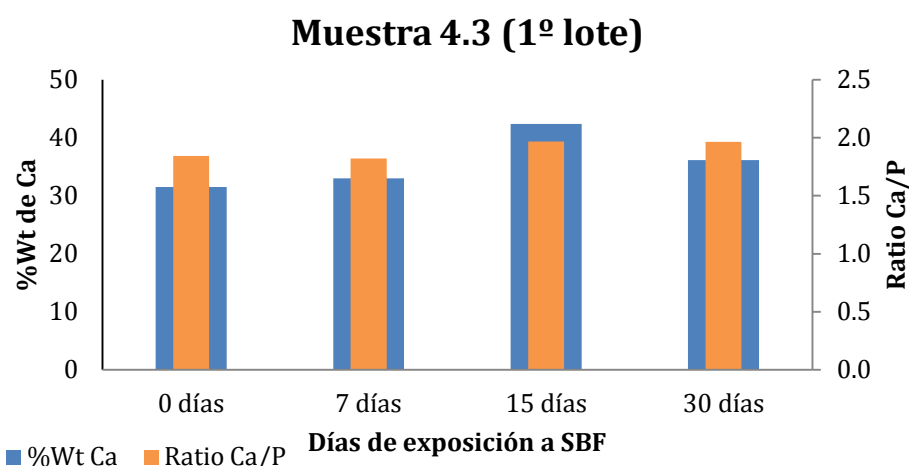
En la tabla anterior, al igual que para la muestra previa, el elemento que resulta más interesante para nuestro estudio es el Ca, al representarlo gráficamente (Figura 5-18) se puede observar como su % final es mayor que el inicial aunque a los 7 días sufre una considerable disminución. Gracias al ratio Ca/P final, 1.75, se puede asegurar que se ha depositado Ca que proviene del SBF. Al igual que en el caso anterior el fenómeno que tiene lugar a los 7 días se explicará al final de la presente sección, ya que como se irá viendo éste se repite.

### Valores medios Muestra 4.3



**Figura 5-18** Media del %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo

En base a todos los resultados presentados, se puede concluir que la muestra 4.3 presenta un comportamiento de bioactividad positivo. Para esta muestra se han obtenido resultados similares, pues todas las experiencias han ofrecido comportamiento bioactivo. Pero como ya pasó en la muestra 2 no todos los comportamientos son iguales, de nuevo en la muestra 4.3 perteneciente al primer lote se ha detectado un comportamiento diferente. En la Figura 5-19 se representa el %Wt de Ca y el ratio Ca/P, al compararla con la Figura 5-18 se puede apreciar como la disminución inicial de Ca no se produce. Además el ratio Ca/P se mantiene prácticamente constante, lo que indica que no ha disminuido el Ca.

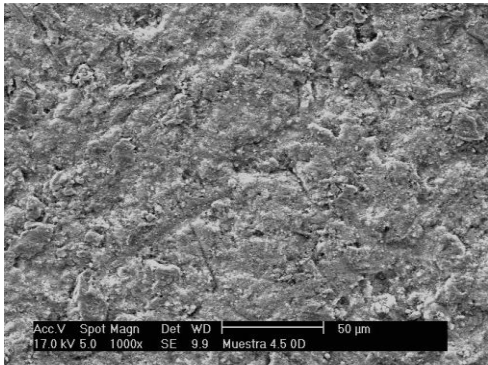
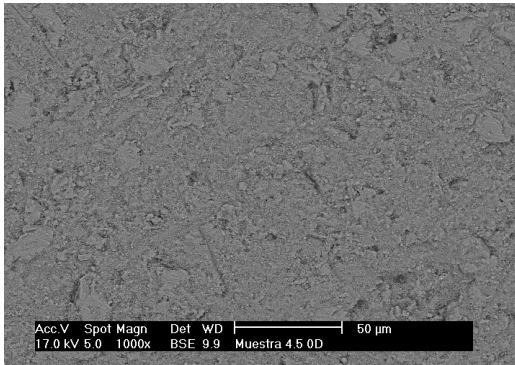


**Figura 5-19** %Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo de la muestra 4.3 (1º lote)

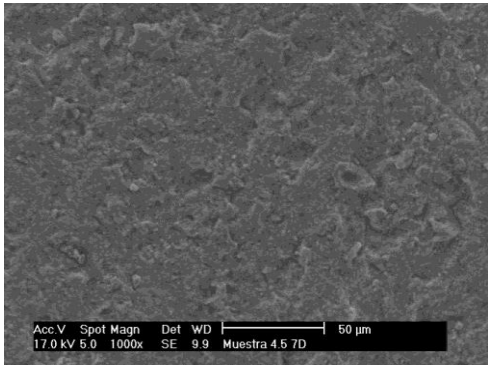
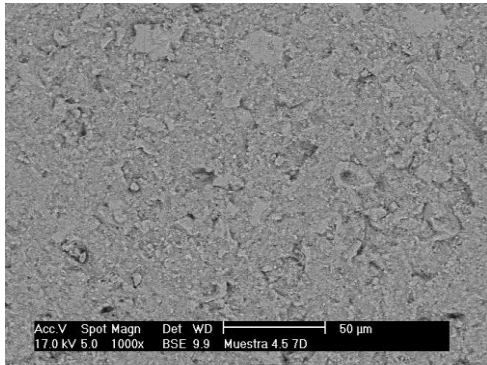
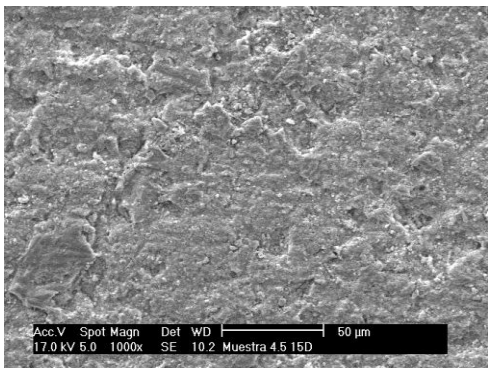
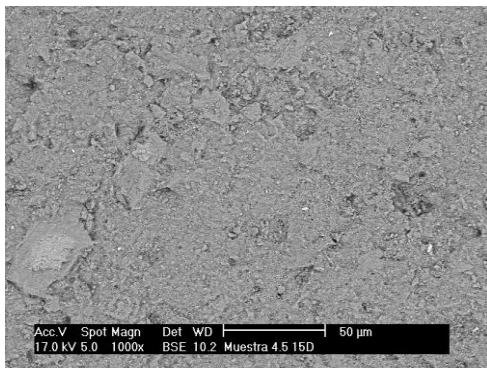
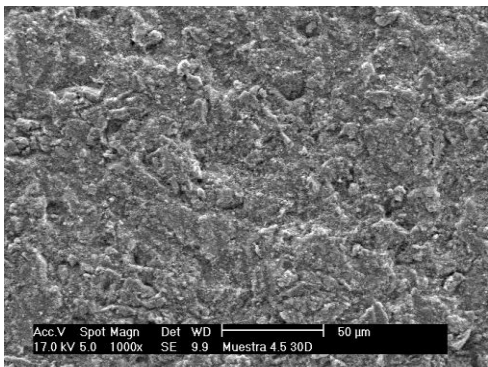
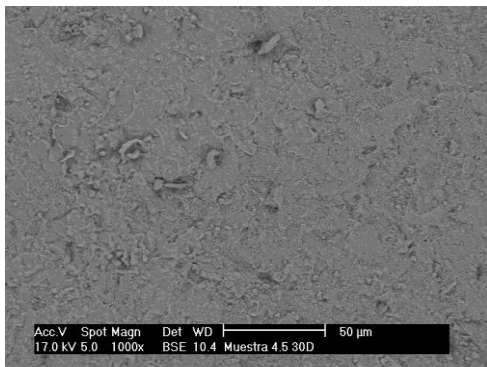
- Muestra 4.5:

En la tabla siguiente se muestran las imágenes obtenidas para 1000 aumentos en los modos SE y BSE para cada una de las experiencias realizadas.

**Tabla 5-15** Imágenes SEM para el material compuesto 4.5

Muestra 4.5 (TSS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 0d		



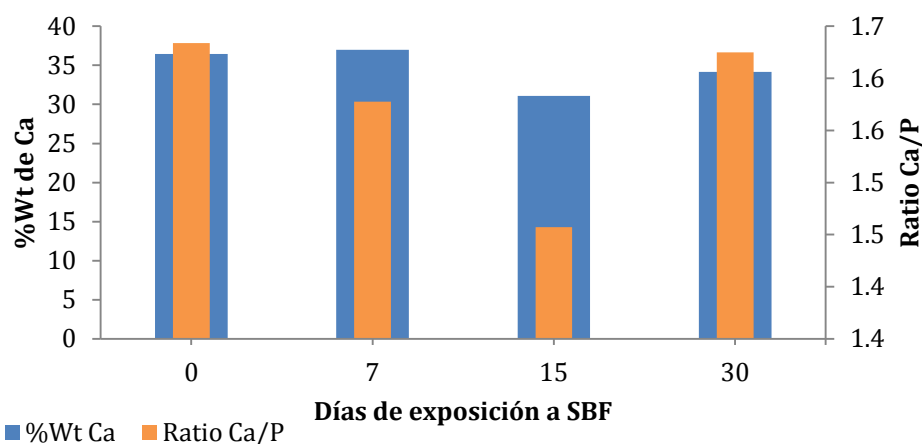
Muestra 4.5 (TSS)	TIPO DETECTORES	
Tiemp. Exp.	SE (Topografía)	BSE (Fases)
t = 7d		
t = 15d		
t = 30d		

En las fotografías tomadas a la muestra 4.5, se puede observar que apenas hay variación a lo largo del tiempo en las superficies en ninguno de los dos modos disponibles. Esto ya es indicativo de los resultados obtenidos en los análisis realizados por EDS-EDAX a 1000 aumentos y que se muestran a continuación:

**Tabla 5-16** Media de los elementos de control establecidos y ratio Ca/P

Nº días exposición	0	7	15	30
%Wt O	27.51	26.60	27.80	23.55
%Wt Na	0.96	1.63	4.28	4.47
%Wt P	17.40	18.25	16.50	16.29
%Wt Cl	0.66	1.50	4.36	5.14
%Wt Ca	36.45	36.98	31.07	34.14
%Wt Ti	17.02	15.02	16.00	16.39
Ratio Ca/P	1.63	1.58	1.46	1.63

### Valores medios Muestra 4.5



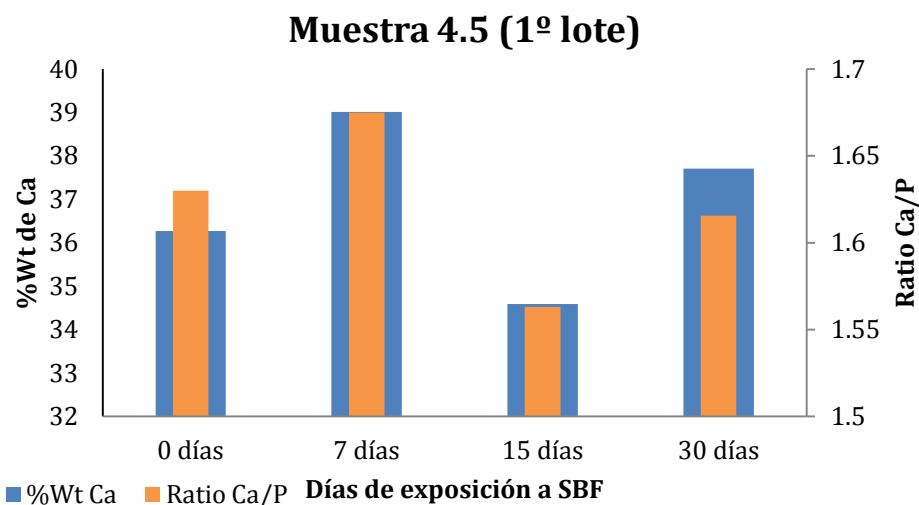
**Figura 5-20** Media del % Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo

Al estudiar los resultados presentados en la Tabla 5-16 y Figura 5-20 se aprecia claramente como el contenido de Ca se mantiene constante al principio para luego disminuir y en el último tiempo de exposición parece que aumente ligeramente, en cuanto al ratio sufre un comportamiento similar aunque cabe destacar que finalmente recupera su valor original. Como en casos anteriores la disminución de Ca que se presenta a los 15 días se explicará de forma conjunta al final de esta sección.

Según los resultados aquí presentados se puede concluir que esta combinación del material compuesto no presenta bioactividad, ya que el contenido final de Ca es menor que el inicial y su ratio final coincide con el inicial. Para esta muestra se han obtenido resultados similares, pues todas las experiencias han ofrecido comportamiento no bioactivo. Pero como ya ha pasado con las dos muestras TSS anteriores no todos los comportamientos son iguales, de nuevo en la muestra 4.5 perteneciente al primer lote se ha detectado un comportamiento diferente. En la Figura 5-21 se representa el %Wt de Ca y el ratio Ca/P, al



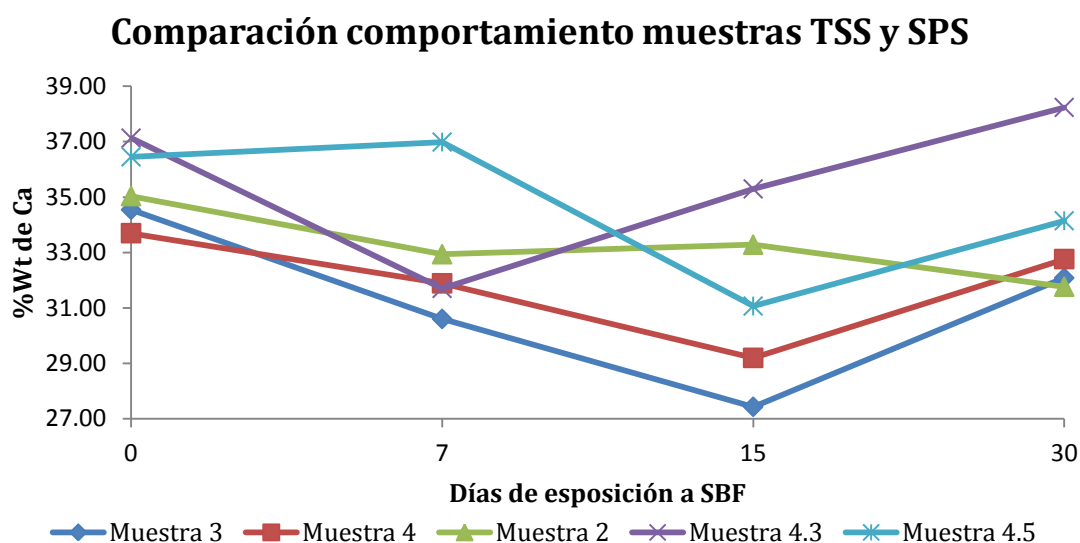
estudiarla se observa que ambos parámetros presenta un comportamiento errático.



**Figura 5-21** Wt de Ca y ratio Ca/P a los diferentes intervalos de tiempo de la muestra 4.3 (1º lote)

### 5.2.3. Estudio conjunto muestras SPS y TSS

A lo largo de los apartados anteriores se ha indicado que se ha detectado un comportamiento repetitivo en la cantidad detectada de Ca durante los diferentes tiempos de exposición. El artículo [67] indica que en un experimento similar al aquí realizado se detecta la competencia entre dos mecanismos, el de solubilización de la capa de hidroxiapatita y el de precipitación de cristales ricos en Ca y P, que aumenta con el tiempo. Así el comportamiento detectado en los análisis semicuantitativos realizados viene a confirmar este hecho. A continuación se muestra una gráfica que resume los estudios realizados a todas las muestras de la %Wt de Ca:



**Figura 5-22** Comparación de la %Wt de Ca de todas las muestras

Al observar este gráfico se puede comprobar cómo existe una tendencia inicial de Ca a disminuir para luego aumentar, este fenómeno no tiene lugar para todas las muestras en el mismo tiempo lo que provoca que en algunos casos, como en el de la muestra 4.5, no se puede asegurar si el mecanismo de precipitación de cristales ricos en Ca es mayoritario o no. Para poder encontrar una respuesta sería necesario realizar periodos de exposición más largos, sin embargo según la bibliografía revisada el periodo establecido para detectar bioactividad es de 30 días, se entiende que tiempos mayores implican recuperaciones demasiado lentas para los intereses finales de este tipo de materiales. Por todo esto las conclusiones a las que se ha llegado al analizar cada tipo de material compuesto se consideran válidas, aunque también se estima que sería importante duplicar el tiempo de exposición de cara a lograr más información y explicar mejor los fenómenos que tienen lugar.

Por otro lado, se ha observado un comportamiento diferente del primer lote de muestras TSS con respecto al segundo y tercer lote. En las muestras SPS no se han observado comportamientos diferentes entre experiencias, esto es lógico dado que para estas solo se disponía de un lote.

A continuación se pasa a resumir los distintos comportamientos encontrados en las muestras TSS, ya explicados en el apartado 5.2.2.

- Muestra 2: Mientras la tendencia generalizada es la de un comportamiento no bioactivo, la muestra del primer lote sí lo es.
- Muestra 4.3: La tendencia generalizada es la de disminución del Ca en las primeras exposiciones. No obstante, la muestra del primer lote no presenta este comportamiento sino que se mantiene constante para luego empezar la deposición de Ca.
- Muestra 4.5: El ejemplar del primer lote presenta un comportamiento errático como ya se ha descrito.

Los comportamientos aquí resumidos ya han sido tenidos en cuenta en el estudio realizado y salvo para la muestra 2 estos no han afectado al resultado final. Se cree que las diferencias encontradas pueden ser debidas a que durante el proceso de fabricación no se han podido repetir las condiciones exactas de la primera tanda de ejemplares.

### 5.3. Determinación del módulo de elasticidad

En esta apartado se mostrarán los resultados obtenidos de las pruebas realizadas de microdureza diferenciando entre SPS y TSS. Cabe recordar que estas pruebas no se llevan a cabo en las instalaciones de la UC3M sino en la UPM, por lo que solo se pueden presentar los resultados no así los datos para obtener estos.

Para esta prueba se considerará como resultado positivo aquel que se aproxime más o esté dentro de la franja del E del hueso, 10-30 GPa.

#### 5.3.1. Muestras SPS

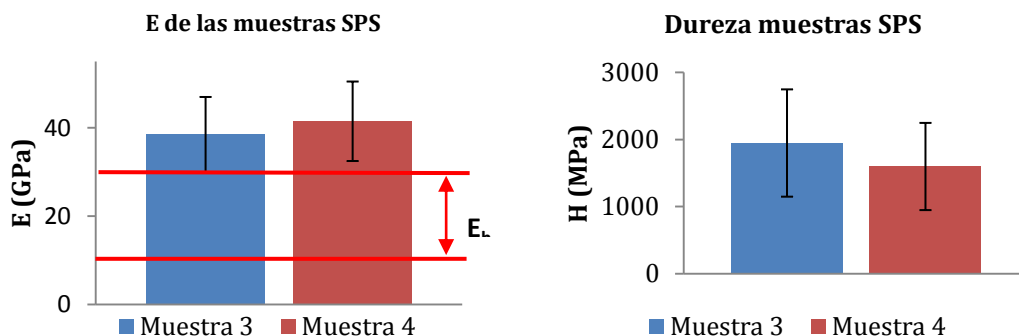
Los resultados de las pruebas de microdureza para las muestras 3 y 4 de tipo SPS permiten obtener el valor de dureza (H) y módulo de elasticidad (E) con sus correspondientes errores, en la tabla siguiente se presentan los valores obtenidos:

**Tabla 5-17** Resumen de los valores obtenidos de H y E en la prueba de microdureza de las muestras 3 y 4

Material	H (MPa)	Error (MPa)	E (GPa)	Error (GPa)
Muestra 3	1950	800	39	9
Muestra 4	1600	650	42	9

De los datos presentados, el que resulta más importante para el estudio realizado en este PFC es el E, no obstante también se analizará el valor de dureza obtenido. Resulta importante comentar una característica común a los dos parámetros de la Tabla 5-17 y es los altos valores de error que resultan especialmente llamativos en el valor de dureza, se piensa que estas cifras se deben a la porosidad de las muestras.

En las gráficas siguientes se representan los valores de H y E obtenidos de las pruebas de microdureza, al analizar los valores de dureza se observan mayores valores para la muestra 3, sin embargo su error es más alto, por el contrario para el E esta situación se invierte y el módulo más alto se encuentra para la muestra 4.



**Figura 5-23** Representación del E y de la H de las muestras 4 y 3 (SPS)

Tras el estudio los datos presentados en la Tabla 5-17 y en la Figura 5-23, se concluye que ninguno cumpliría el requisito necesario de tener un E similar al del hueso humano, ya que los valores medios de ambos ejemplares se encuentran lejos de los valores máximos establecidos. No obstante, de entre las dos posibilidades la mejor opción es la muestra 3 al tener el módulo más bajo y además si se tiene en cuenta el error de la medida esta se podría aproximar a valor máximo de la franja establecida.

### 5.3.2. Muestras TSS

Los resultados de las pruebas de microdureza para las muestras 2, 4.3 y 4.5 de tipo TSS permiten obtener el valor de dureza (H) y módulo de elasticidad (E) con sus correspondientes errores, en la tabla siguiente se presentan los valores obtenidos:

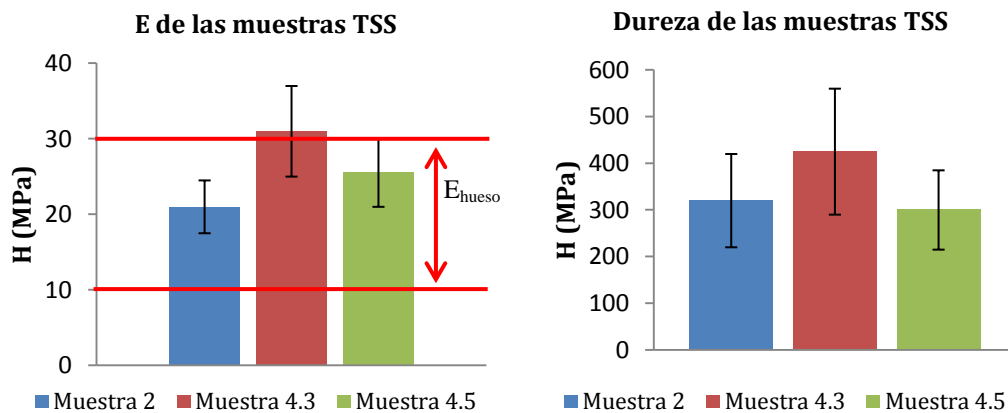
**Tabla 5-18** Resumen de los valores obtenidos de H y E en la prueba de microdureza de las muestras 2, 4.3 y 4.5

Material	H (MPa)	Error (MPa)	E (GPa)	Error (GPa)
Muestra 2	320	100	21	3.5
Muestra 4.3	450	140	32	6
Muestra 4.5	400	130	30	6

Al igual que para las muestras de tipo SPS los valores obtenidos (Tabla 5-18) presentan unos elevados errores que son mayores para la dureza. Se piensa que seguramente esto se deba a la elevada porosidad de las muestras.

En las gráficas siguientes se representan los valores de H y E, obtenidos de las pruebas de microdureza. Al analizar los valores de dureza se observa un mayor valor para la muestra 4.3 teniendo las otras dos muestras valores más próximos entre ellas. El error más alto se encuentra también en la muestra 4.3. En cuanto al

E, se encuentra en una situación un poco diferente, la muestra 4.3 posee el valor más alto pero entre las otras dos muestras existen mayores diferencias siendo la muestra 4.5 la que tiene el segundo valor más alto.



**Figura 5-24** Representación del E y de la H de las muestras 2,4.3 y 4.5 (TSS)

Tras el estudio los datos presentados en la Tabla 5-18 y en la Figura 5-24, se concluye que todas las muestras cumplen el requisito de que su E se aproxime o este dentro de la franja del  $E_{\text{hueso}}$ , aunque la muestra 4.3 cumple este requisito de forma ajustada. Atendiendo al criterio establecido, el que mejor lo cumple sería la muestra 2 luego la muestra 4.5 y finalmente la muestra 4.3.

## 6. Conclusiones

Tras los resultados obtenidos durante las pruebas realizadas para este análisis previo de biocompatibilidad de un material compuesto de matriz de HAp y refuerzo de Ti fabricado por PM se llega a la conclusión de que las muestras más prometedoras y por lo tanto los mejores candidatas como biomateriales a pasar a la siguiente fase de pruebas in-vitro son las muestras 2 y 4.3 por reunir cualidades bioactivas y un E óptimo.

En torno a esta conclusión se generan los siguientes comentarios:

- La caracterización química por DRX se ha llevado a cabo con éxito sólo en las muestras de tipo TSS, ya que debido a la resina de embutición utilizada para las muestras SPS ha resultado impracticable. Se ha podido comprobar que el proceso de fabricación utilizado para las muestras 2, 4.3 y 4.5 permite la obtención de un composite de matriz de HAp con refuerzo Ti sin apenas sufrir descomposición de esta primera y que resulta muy importante controlar las condiciones del proceso.
- El estudio de bioactividad ha demostrado la inactividad de las muestras 3, 4 de tipo SPS y de la 4.5 de tipo TSS y la bioactividad de las muestras 2 y 4.3. Durante el desarrollo de esta fase del análisis se detecta un comportamiento diferente en las muestras que se han recibido en la segunda tanda y se concluye que no se han conseguido repetir las condiciones de fabricación del primer lote. También se determina que en estos experimentos compiten dos mecanismos antagónicos que aumentan con el tiempo, pero que los periodos establecidos resultan insuficientes para poder valorar correctamente los mismos y establecer si las muestras no bioactivas pueden resultar serlo a más largo plazo. Aunque se estima que plazos mayores no resultan interesantes para los fines de estos compuestos, sí se cree relevante aumentarlo para obtener mayor cantidad de información.
- Las pruebas de microdureza demuestran que la técnica que consigue los E más próximos al hueso humano es la de Two Step Sintering.

Finalmente, en cuanto al objetivo secundario de evaluación del método propuesto para este estudio se considera que resulta ser un método válido pues los fenómenos descritos por la literatura han sido detectados y los resultados obtenidos ofrecen comportamientos similares a los ofrecidos por otros métodos.



## 7. Trabajos futuros

En el presente Proyecto Fin de Carrera se ha establecido el mejor candidato como biomaterial y al paso a la siguiente fase de pruebas in-vitro. Se ha caracterizado químicamente para comprobar que el producto obtenido por los procesos de fabricación SPS y TSS es el esperado y se han estudiado tanto la bioactividad como el E de las diferentes muestras disponibles. Además se han evaluado la idoneidad de las máquinas utilizadas y del método utilizado de estudio. Por todo ello, se realizan las siguientes propuestas de cara a futuros estudios de este tipo:

- Para evitar problemas en la caracterización química de los materiales se recomienda buscar resinas de embutición que sean lo más transparentes posible a las técnicas utilizadas para tal fin.
- Complementar la pruebas de caracterización química tradicionales, DRX, SEM y EDS-EDAX, con la prueba FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) para poder aclarar cualquier duda sobre los elementos que componen las muestras.
- Duplicar el tiempo de exposición al SBF de las muestras para poder estudiar mejor el comportamiento de las mismas y así establecer a partir de qué momento el mecanismo de deposición de cristales de Ca se hace mayoritario.
- Aumentar el número de experiencias por tipo de muestra, como mínimo 11 veces, para obtener un estudio más robusto y poder realizar un análisis estadístico.
- Fijar parámetros de control que permitan establecer las causas del diferente comportamiento del mismo material compuesto proveniente de diferentes lotes de fabricación y de esta forma tratar de establecer si es posible la repetibilidad y reproducibilidad del proceso, aunque para este último sería necesario realizar el proceso en diversos sitios. Esto resulta importante de cara a su fabricación en serie, en caso de superar las fases siguientes de validación como biomaterial.
- Realizar pruebas de microdureza a un número mayor de piezas y tratar de obtener errores menores.
- Estudio de la microestructura de las piezas para correlacionarlo con las propiedades mecánicas de H y E.

## 8. Bibliografía

- [1] El mundo.es. *Descubren en Egipto la prótesis más antigua del mundo*. [En línea] [s.l.]: EFE, 2007. [Consulta: 10 de 01 de 2013.] Disponible en web: <http://www.elmundo.es/elmundo/2007/07/27/ciencia/1185518042.html>.
- [2] **Pruitt L., Ayyana M.** *Mechanics of Biomaterials: Fundamental Principles for Implant Design*. [s.l.] : Cambrige University Press, 2011.
- [3] *La proyección térmica en la obtención de recubrimientos biocompatibles: ventajas de la proyección térmica por alta velocidad (HVOF) sobre la proyección térmica por plasma atmosférico (APS)*. **Fernandez J, Guilemany M., Gaona M.** 1, [s.l.] : SIBB, 2005, Biomecánica: Órgano de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales, vol. 13, p. 16-39. 1135-2205.
- [4] **Departamento de Asuntos Económicos y sociales de Naciones Unidas.** *El desarrollo en un mundo que envejece*. [En línea] Nueva York: 2007. [Consulta: 10 de 01 de 2013.] Disponible en web: <http://www.un.org/esa/policy/wess/index.html>.
- [5] **Gallina A., et al.** *Innovaciones Creativas y Desarrollo Humano*. [s.l.] : Trilce, 2007.
- [6] **Morato A., Narvaez I., Toribio C.** *El Futuro de los Biomateriales. Tendencias tecnológicas a medio y largo plazo*. Madrid : Fundación OPTI y FENIN, 2004.
- [7] **Cardona V.** *Preparación y caracterización fisicoquímica y estructural de un gel conductor a base de quitosano*. [En línea] Santiago de Cali: 2012. [Consulta: 15 de 02 de 2013.] Disponible en web: <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/xmlui/handle/10893/4269>
- [8] **Fuentes G., et al.** *Sustainable Technologies for the Health of All*. Cuba: Springer Berlin Heidelberg, 2013. vol. 33, p. 136-139.
- [9] Real Academia de la Lengua Española. [En línea] [Consulta: 15 de 05 de 2013] Disponible en web: <http://lema.rae.es/drae/?val=biocompatibilidad>
- [10] **Clemens V.B., et al.** *Tissue Engineering*. [s.l.] : Elsevier, 2008. p.256-278
- [11] **Fäldt J.** *Materials Functionalities: Biocompatibility*. [s.l.] : Divulgacion CINN, 2012.
- [12] **Vallet M.** *Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos*. [s.l.] : Departamento de Química Inorganica y Biorgánica. Universidad Complutense, 2004.
- [13] **Dimah M. K.** *Estudio del comportamiento frente a la tribocorrrosión de aleaciones biomédicas de titanio en electrolitos que simulan el suero humano mediante técnicas eletroquímicas*. Tesis de máster. Universidad Politécnica de Valencia: Valencia, 2012.



- [14] Osteogenos. [En línea] [Consulta: 07 de 02 de 2013.] Disponible en web: <http://www.webmastersasociados.com/osteogenos/sistema/sistema-6.php>
- [15] **Infante-Cossío P., Gutiérrez-Pérez J.L.** *Relleno de cavidades óseas en cirugía maxilofacial con materiales autólogos*. Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial, 2007, vol. 29, p. 7-19.
- [16] **Hupp J. R., Ellis III E., Tucker M. R.** *Cirugía oral y maxilofacial contemporánea*. 5ª ed. Barcelona :evolve, 2010.
- [17] **Simancas M., et al.** *Utilización de injerto de tejido conectivo sub-epitelial en implantología oral*. Acta Odontológica Venezolana, 2011, vol. 49, num. 4, p.128-135.
- [18] **Moore U. J.** *Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. Oxford : Wiley-Blackwell, 2011. p. 183-196.
- [19] **Sanchez M.A., et. al.** *Bibliographic review of Oral Implantology of year 2010*. Madrid: Avances en Periodoncia, 2012, vol.24, n.2, p.77-94.
- [20] **Dalmau A.** *Caracterización y estudio del comportamiento electroquímico de aleaciones biomédicas de titanio*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de València: Valencia, 2012.
- [21] *Titanio*. [En línea] [s.l.]: Estrucplan On Line, 2007. [Consulta: 28 de 04 de 2013.] Disponible en web: <http://www.estrucplan.com.ar/articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=1738>
- [22] *El titanio*. [En línea]. [s.l.]: QUO, 2009. [Consulta: 05 de 05 de 2013.] Disponible en web: [http://www.quo.es/ciencia/inventos/el\\_titanio](http://www.quo.es/ciencia/inventos/el_titanio)
- [23] **Leyens C., Manfred P.** *Titanium and Titanium Alloys: Fundamentals and Applications*. Alemania: German Aerospace Center Institute of Materials Research, 2006.
- [24] **Destefani J.D., et. al.** *ASM Handbook Volume 2, Properties and Selection: Nonferrous Alloys and Special-Purpose Materials*. 10ª ed. [s.l.]: ASM International, 1990, vol. 2. p. 1170-1782.
- [25] **Hedlund M.** *Soldadura de aleaciones de titanio de aplicación en motores de aviones*. Tesis de master. Universitat Politècnica de Catalunya, Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metallúrgica, Catalunya, 2005.
- [26] **Peacock D.** *All at sea with titanium: its role in offshore*. Materials World. 1996, vol. 4, num. 12, p. 696-698.
- [27] **Kubli L.** *Titanium Alloys in Surgical Implants*. Baltimore : ASTM STP 796, 1983.



- [28] **Wingborg, J.** Pulso Médico. Diario del mundo médico. [En línea] [Consulta: 2013 de 03 de 29.] Disponible en web: <http://pulsomedico.com/news.php?viewStory=5579>
- [29] **Roza G.** *Understaanding the Elements of the Periodic Table TITANIUM*. Nueva York : The Rosen Publishing Group, 2008. p. 8-12.
- [30] **Garrett R., Abhay P., Panagiotis D.** *Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications*. Biomaterials, 2006, vol. 27, num. 13, p. 2651-2670.
- [31] **Delgado L.** *Optimización del sellado biológico de implantes dentales mediante la estimulación de la adhesión y activación de fibroblastos sobre superficies de titanio mecanizadas*. Proyecto fin de carrera. Universitat Politècnica de Catalunya, Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metallúrgica , Cataluña, 2011.
- [32] **Tanigawaa H., et al.** *Electrochemical corrosion and bioactivity of titanium-hydroxyapatite composites prepared by spark plasma sintering*. Corrosion Science, 2013, vol. 70, p. 212-220.
- [33] Ingeniería de Materiales. *Manula del Titanio y sus Aleaciones*. [En línea] [Consulta: 31 de 03 de 2013.] Disponible en web: <http://www.ingenieriademateriales.com/manual-del-titanio-y-sus-aleaciones/>
- [34] **Russell W., Simon B.** *Fatigue of Beta Processed and Beta Heat-treated Titanium Alloys*. [s.l.] : Springer, 2012. p. 5-10.
- [35] **Antón, J.J.** *Tema 2: Aleaciones ligeras y conductoras*. [En línea] [s.l.] : Universitat Jaume-I, 2012. [Consulta: 28 de 03 de 2013.] Disponible en web: <https://aulavirtual.uji.es/mod/resource/view.php?id=1220621>
- [36] **Yang Y., et al.** *Enhancing osseointegration using surface-modified titanium implants*. JOM, 2006, vol. 58, num. 7, p. 71-76.
- [37] **Benga G.,** *Wear behaviour of ceramic biocomposites based on hydroxiapatite nanopowders*. Journal of process mechanical engineering, 2011, vol. 225, num. 1, p. 62-71.
- [38] **Novikova, G. E.** *Introduction to corrosion of bioimplants*. Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces, 2011, vol. 47, num. 3, p. 372-380.
- [39] **Masmoudi, M.** *Friction and wear behaviour of cp Ti and Ti6Al4V following nitric acid passivation*. Applied Surface Science, 2006, vol. 253, num. 4, p. 2237-2243.
- [40] **Marcua T., et al.** *Effect of surface conditioning on the flowability of Ti6Al7Nb powder for selective laser melting applications*. Applied Surface Science, vol. 258, num. 7, p. 3276-3282.

- [41] **Sastre R., Aza S., San Roman J.** *Biomateriales*. [s.l.]: Faenza Editrice iberica, 2004. p. Capítulos 3 y 7.
- [42] **Guobin M., Xiang L.** *Hydroxyapatite: Hexagonal or Monoclinic*. Crystal Growth & Design, 2009, vol. 9, num. 7, p. 2991-2994.
- [43] **Monge M. A.** *Apuntes de Biocerámicas y Bioglasses del departamento de fisica de la UC3M de Madrid*. Madrid: UC3M, 2010.
- [44] **Mastoby M., Pacheco A., Vargas M.** *Evaluación histológica de biocompatibilidad de hidroxiapatita*. MVZ Córdoba, 2009, vol. 14, num. 1, p. 1624-1632.
- [45] **Erlin Z., Chunming Z.** *Porous titanium and silicon-substituted hydroxyapatite biomodification prepared by a biomimetic process: Characterization and in vivo evaluation*. Acta Biomateriala, 2009, vol. 5, num. 5, p. 1732-1741.
- [46] **Miranda M.** *Materiales compuestos nanoestructurados biocompatibles con matriz de hidroxiapatito*. Tesis doctoral. Universidad de Oviedo, Departamento de ciencia de los materiales e ingeniería metalúrgica, Oviedo, 2010.
- [47] **Gaona M.** *Recubrimientos biocompatibles obtenidos por proyección térmica y estudio invtro de la función osteoblástica*. Tesis doctoral. Universitat de Barcelona, Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metallúrgica, Barcelona, 2007.
- [48] **Benga G., et al.** *Processing and Laser Micromachining of HAP Based Biocomposites*. Engineering the Future, 2010.
- [49] **Pérez Rojo, B.** *Biomateriales : aplicación a cirugía ortopédica y traumatológica*. Proyecto fin de carrera. Universidad Carlos III de Madrid, Departamento de Ingeniería Mecánica, Madrid, 2010.
- [50] **Teerawat L., et al.** *Acoustic emission and fatigue damage induced in plasma-sprayed hydroxyapatite coating layers*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2012, vol. 8, p. 123-133.
- [51] **Melero H., et al.** *Caracterización de nuevos recubrimientos biocompatibles de hidroxiapatita-TiO2 obtenidos mediante Proyección Térmica de Alta Velocidad*. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio, 2011, num. 2, vol. 50, p. 59-64.
- [52] **Chi-Min L., Shiow-Kang Y.** *Characterization and bond strength of electrolytic HA/TiO2 double layers for orthopaedic applications*. Materials in medicine, vol. 16, num. 10, p. 889-887.
- [53] **Purna C., et al.** *Titania/hydroxyapatite bi-layer coating on Ti metal by electrophoretic deposition: Characterization and corrosion studies*. Ceramics International, 2012, vol. 38, num. 4, p. 3209-3216.



- [54] ASTM. *Standard Specification for Composition of Hydroxylapatite for Surgical Implants*. ASTM F1185-03. West Conshohocken: ASTM, 2009.
- [55] ISO. *Implants for surgery Hydroxyapatite*. ISO 13779-1:2008. Switzerland: ISO, 2008.
- [56] **Bangwu L., Yue Z.** *La<sub>0.9</sub>Sr<sub>0.1</sub>Ga<sub>0.8</sub>Mg<sub>0.2</sub>O<sub>3-δ</sub> sintered by spark plasma sintering (SPS) for intermediate temperature SOFC electrolyte*. Journal of Alloys and Compounds, vol. 458, num. 1, p. 383-389.
- [57] **Bezerra G., et al.** *Sintering of Ceramics - New Emerging Techniques*. [s.l.]: Intech, 2012, p. Capítulo 19.
- [58] **Gingu O., et. al.** *Wear behaviour of ceramic biocomposites based on hydroxiapatite nanopowders*. Journal of Process Mechanical Engineering, vol. 225, num. 1, p. 62-71.
- [59] **Anawati, Hiroaki T., Hidetaka A.** *Electrochemical corrosion and bioactivity of titanium-hydroxyapatite*. Corrosion Science, 2013, vol. 70, p. 212-220.
- [60] **Farzin A., Ahmadian M., Fathi M.H.** *Comparative evaluation of biocompatibility of dense nanostructured and microstructured Hydroxyapatite/Titania composites*. Materials Science and Engineering C, 2013, vol. 33, p. 2251-2257.
- [61] Gekometal. [En línea] [Consulta: 21 de 12 de 2012.] Disponible en web: <http://www.gekometal.com/it/Universal-Machines/menu-id-199.html>
- [62] Nabertherm. [En línea] [Consulta: 21 de 12 de 2012.] Disponible en web: [http://www.nabertherm.de/produkte/details/es/labor\\_muffeloefen](http://www.nabertherm.de/produkte/details/es/labor_muffeloefen)
- [63] **Hezhou Y., Xing Yang L., Hanping H.** *Characterization of sintered titanium/hydroxyapatite biocomposite using FTIR spectroscopy*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2008, vol. 20, p. 843-850.
- [64] **Deepak K. Pattanayak, B. T. Rao, T. R. Rama Mohan.** *Calcium phosphate bioceramics and bioceramic composites*. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 2011, vol. 59, num. 3, p. 432-447.
- [65] **M.J Santillan, et. al.** *Recubrimientos bioactivos para regeneración de tejido óseo obtenidos por deposición electroforética*. [En línea] [s.l.]: 2010. [Consulta: 07 de 01 de 2013.] Disponible en web <http://www.fcai.uncu.edu.ar/upload/24qtc-santillan-fcai.pdf>
- [66] **Park, J.B.** *Biomaterials in the biomedical engineering handbook*. [s.l.]: Bronzino, 2000.
- [67] **Copete H., López M.E** *In vitro evaluation of oxy-fuel thermal sprayed hydroxyapatite coatings onto Ti6Al4V substrates*. DYNA, 2012, vol. 80, num. 177, p. 101-107.





- [68] SINC. *¿Cómo interacciona un implante de titanio con el medio fisiológico que lo rodea?* [En línea] [s.l.]: UAM, 2010. [Consulta: 07 de 01 de 2013.] Disponible en web: <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Como-interacciona-un-implante-de-titanio-con-el-medio-fisiologico-que-lo-rodea>
- [69] **Esteve, L. C.** *Últimos avances en superficies implantarias.* Gaceta Dental [En línea]. 2006, nº 166, p. 88-99. Última actualización: 11 de 10 de 2011. [Consulta: 17 de 03 de 2013.] Disponible en web: <http://www.gacetadental.com/noticia/3144/CIENCIA/Ultimos-avances-en-superficies-implantarias.html>
- [70] Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. [En línea] [Consulta: 05 de 01 de 2013.] Disponible en web <http://fc.uni.edu.pe/portal/index.php/ingenieria-fisica.html>
- [71] **Adnersen H., Bay H.L., Sigmund R.** *Sputtering by Particle Bombardment.* [s.l.]: Springer, 1981.
- [72] **Benavente R.** *Microdureza y nanoindentación.* [En línea] [s.l.]: Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, 2011. [Consulta: 28 de 03 de 2013.] Disponible en web: <http://www.ictp.csic.es/qf/ppcontrol/bibliografia/D22-MH-2011.pdf>
- [73] **Sanchez O.** *Técnicas de caracterización de superficies y películas delgadas. Nanoindentación.* [En línea] [s.l.]: Instituto de ciencia de materiales de Madrid, 2008. [Consulta: 28 de 04 de 2013.] Disponible en web: <http://www.icmm.csic.es/fis/espa/nanoindentacion.html>.
- [74] **Ninga C.Q., Zhou Y.** *On the microstructure of biocomposites sintered from Ti,HA and bioactive glass.* Biomaterials, 2004, vol. 25, num. 17, p. 3379-3387.
- [75] **Jimenez C., Malachevshy M.** *Fabricación y caracterización de espumas metálicas a partir de mezclas de Al-TiH<sub>2</sub>.* CONAMET, 2003, vol. 3, p. 139-143.
- [76] **González C.** *Procedimiento de fabricación de un panel sándwich de aluminio.* ES 2 277 736 B1. Patente de invención. 200501179. 2013 de 04 de 16.
- [77] **León-Patiño C.A., Monje M.A.** *Preparación de Espumas de Aluminio por Metalurgia de Polvos.* Foro de Ingeniería e investigación en materiales, 2009, vol. 6, num. 5, p. 27-32.
- [78] **Illeková E., et. al.** *Peculiarities of TiH<sub>2</sub> decomposition.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2011, vol. 105, num. 2, p. 583-590.
- [79] **Matijasevic-Lux B. et. al.** *Modification of titanium hydride for improved.* Acta materiala, 2006, vol. 54,. nº7.
- [80] Ciencia popular. *Principio de funcionamiento.* [En línea] [Consulta: 27 de 12 de 2012.] Disponible en web:



[http://www.cienciapopular.com/n/Ciencia/Microscopia\\_Electronica/Microscopia\\_Electronica.php](http://www.cienciapopular.com/n/Ciencia/Microscopia_Electronica/Microscopia_Electronica.php)

- [81] **Skoog, D.A.** *Principios de Análisis Instrumental*. 5º ed. [s.l.]: Mc Graw Hill, 2002.
- [82] **Tipler P., Mosca G.** *Física para la ciencia y la tecnología*. Barcelona : Reverté, 2006.
- [83] UNED. *Microscopia eletrónica*. [En línea] [Consulta: 03 de 01 de 2013.] Disponible en web: [www.uned.es/cristamine/mineral/metodos/sem.htm](http://www.uned.es/cristamine/mineral/metodos/sem.htm)
- [84] **Pascal, N. U.** *Sesión Teórico-Práctica 4: Fundamentos de la microscopía eletrónica*. [En línea] Murcia: OpenCourseWare de la Universidad de Murcia, 2009. [Consulta: 03 de 01 de 2013.] Disponible en web <http://ocw.um.es/ciencias/sistematica-zoologica/material-de-clase>
- [85] Universidad da Alicancte. *Introducción a la ciencia de los materiales*. [En línea] [Consulta: 05 de 01 de 2013.] Disponible en web: [http://www.ua.es/dpto/dqino/RTM/ICM/09\\_10/present/martinez\\_melchor.pps](http://www.ua.es/dpto/dqino/RTM/ICM/09_10/present/martinez_melchor.pps)
- [86] **Sendar N.** *Difracción de rayos X*. [En línea] [Consulta: 30 de 04 de 2013.] Disponible en web <http://es.scribd.com/doc/51662197/Difraccion-rayos-X>
- [87] SCAI Unidad difracción de Rx. *Difracción de rayos X*. [En línea] [Consulta: 30 de 04 de 2013.] Disponible en web: <http://www.scai.uma.es/servicios/aqcm/drx/drx.html>
- [88] Universidad de Sevilla. *Fundamento teórico de difracción de rayos-X*. [En línea] [Consulta: 30 de 04 de 2013.] Disponible en web: [http://investigacion.us.es/images/citius/docs/fundamentos\\_drx.pdf](http://investigacion.us.es/images/citius/docs/fundamentos_drx.pdf)
- [89] RPS Qualitas. Consultoria de Calidad y Laboratorio. *Métodos de difracción de rayos X*. [En línea] [Consulta: 30 de 04 de 2013.] Disponible en web: <http://www.rpsqualitas.es/documentacion/instrumental.php>
- [90] Wikipedia. *Cristalografía de rayos X*. [En línea] [Consulta: 30 de 04 de 2013.] Disponible en web: [https://es.wikipedia.org/wiki/Cristalograf%C3%ADa\\_de\\_rayos\\_X](https://es.wikipedia.org/wiki/Cristalograf%C3%ADa_de_rayos_X)

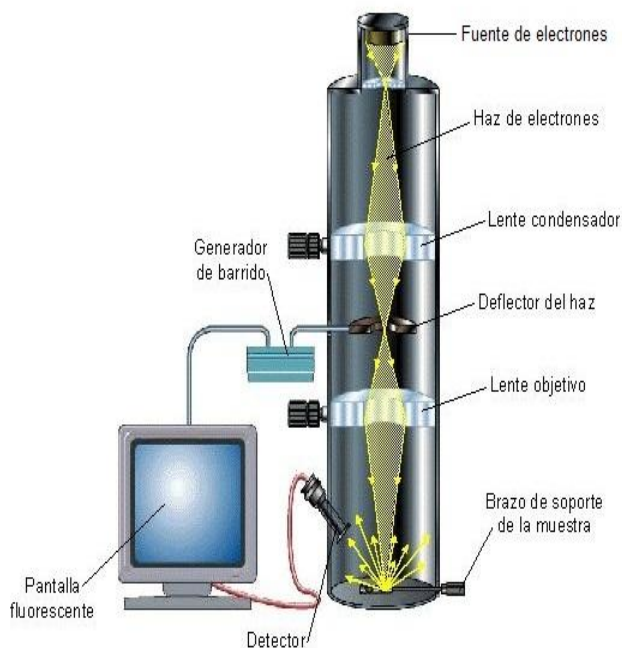


## ANEXOS

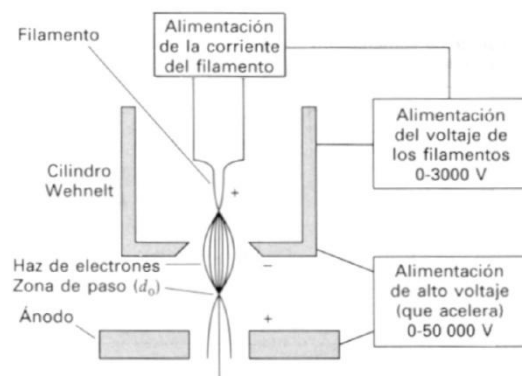
## ANEXO I: Fundamentos y teoría del uso de la microscopía electrónica de barrido.

El principio de funcionamiento del SEM (Figura AI-0-1 y Figura AI-0-2) (Knoll, 1935 [80]) se basa en la interacción y conducción de los electrones con los átomos de los elementos para formar una imagen, motivo por el cual es indispensable que la muestra sea conductora o en su defecto disponga de un recubrimiento que sea conductor. De entre todas las partes que forman un microscopio la fuente de electrones (Figura AI-0-1) resulta ser una de las más importantes, ya que es en ella donde se produce la aceleración de los electrones para de esta manera aprovechar su comportamiento ondulatorio. [81] Dicha aceleración se consigue aplicando una diferencia de potencial que suele ir de 1 a 50 kV, según el cual la longitud de onda se hace menor a mayor potencial, lo que permite obtener resoluciones mucho mayores [82]. Esta es por la tanto la gran ventaja que presenta este tipo de microscopios, pero no es la única. [83] [84] [85]

### Microscopio electrónico de barrido



**Figura AI-0-2:** Esquema general SEM [85]



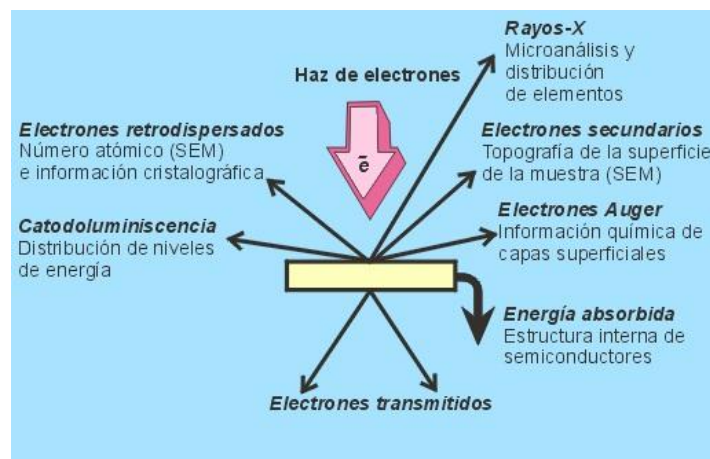
**Figura AI-0-1:** Diagrama de bloques de una fuente de filamento de tungsteno. [81]

Una vez los electrones han salido del cañón o fuente son los sistemas de lentes magnéticas; condensadoras y de enfoque, los encargados de dirigir y reducir el haz de electrones hacia la muestra para conseguir los aumentos deseados; esto se consigue variando la intensidad del campo magnético de las lentes. Por otro lado el encargado de generar el barrido sobre la muestra desviando los electrones según los ejes X e Y es el deflector, así mismo este se

encuentra sincronizado con la pantalla de video de forma que cada punto de la muestra se corresponde con un punto de la imagen proyectada. [83] [84]

Resulta importante mencionar que para que todo el proceso se realice correctamente y los electrones no sufran ningún desvío de su trayectoria prefijada es necesario que la columna este lo más libre posible de partículas de gas, por lo que se debe trabajar en condiciones de vacío. [83]

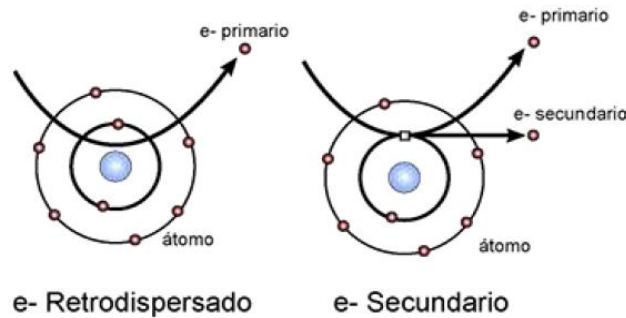
Una vez el haz llega a la muestra se produce la interacción entre estos dos (Figura AI-0-3); dando lugar a una serie de radiaciones secundarias, cada una de las cuales proporciona una información distinta.



**Figura AI-0-3:** Esquema de las interacciones entre la muestra y los electrones [83]

Estas interacciones se pueden clasificar en dos categorías (Figura AI-0-4), las cuales se pueden dar simultáneamente:

- Interacciones elásticas: En este caso los electrones del haz sufren diversas colisiones con los átomos de la muestra, durante las cuales su dirección se ve alterada pero su energía se mantiene prácticamente intacta, dando lugar a los electrones retrodispersados; conviene mencionar que el haz reflejado tiene un diámetro mucho mayor que el haz incidente. La intensidad de emisión depende del número atómico medio de los átomos de la muestra, esto conlleva, por ejemplo, que los elementos más pesados produzcan mayor cantidad de este tipo de electrones.
- Interacciones inelásticas: Al igual que en el caso anterior los electrones sufren colisiones, pero la diferencia se encuentra en que ceden parte o toda su energía a los electrones de la muestra; dando lugar a que salgan despedidos electrones del átomo y obteniéndose un estado excitado del sólido. Es en este estado cuando se emiten electrones secundarios, electrones Auger, rayos X y a veces fotones de longitud de onda larga (catodoluminiscencia).



**Figura AI-0-4** Interacciones elásticas e inelásticas.

Por medio de la detección de los electrones secundarios (SE) se obtienen imágenes tridimensionales de la topografía de la muestra. Si en su lugar se usan los electrones retrodispersados (BSE) se consigue una imagen que revela las diferencias de composición química por medio de diferencias de contraste. Finalmente también es posible hacer un microanálisis químico cualitativo e incluso semicuantitativo mediante la espectrometría de dispersión de longitudes de onda de los rayos X emitidos, siempre y cuando el microscopio disponga de las microsondas adecuadas como por ejemplo las wavelength-dispersive spectrometers (WDS) o energy-dispersive spectrometers (EDS). [83]

Las muestras se disponen en el SEM mediante una pletina portadora metálica, a la cual se adhieren gracias a una cinta adhesiva de doble cara de grafito y eventualmente puede ser usada también pintura de grafito, todo ello tiene como objetivo cerrar el circuito para que circulen los electrones absorbidos.

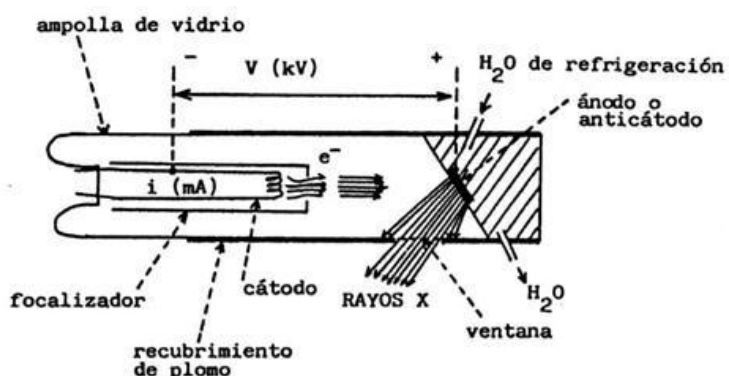


## ANEXO II: Difracción de rayos X [86] [87] [88] [89] [90]

Los difractómetros de rayos X (Figura AII-0-2) resultan máquinas muy complejas, por lo que se describirán brevemente las partes que las forman y las leyes básicas en las que se basan. Los componentes básicos de estas son:

- Generador de rayos X o tubo de rayos X, compuesto por; un generador de corriente, fuente de electrones (cátodo), y la fuente de rayos X (ánodo) que puede ser de Cu, Co o Fe. Así mismo este componente dispone de un sistema que controla la generación de los rayos X y un sistema de refrigeración alimentado normalmente por agua. Los tubos de rayos X más comunes son los de cátodo incandescente (Figura AII-0-1).

Básicamente lo que se hace es hacer pasar una corriente eléctrica, de entre 10 y 60 mA, para calentar el cátodo de wolframio que es así capaz de emitir electrones. Este suele estar rodeado de una pantalla metálica, focalizador, abierto solo en la dirección de salida de los electrones hacia el ánodo y mantenida a potencial negativo para repeler todos los electrones que van en otras direcciones. Los cuales son acelerados por un diferencial de potencial, de varios kV, aplicado entre el filamento y el ánodo, de esta forma los electrones chocan con este último y provocan la emisión de rayos X (Radiación X primaria) en todas las direcciones. De toda la energía la energía cinética tan solo un 1% se invierte en la producción de rayos X el resto se pierde en forma de calor. Todos los elementos hasta aquí descritos se encuentran encapsulados en una ampolla de vidrio en la que se hace alto vacío.

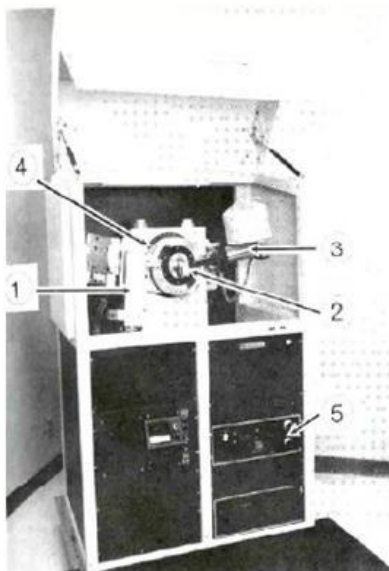


**Figura AII-0-1** Esquema de un tubo de rayos X de cátodo incandescente

- Portamuestras que está diseñado de manera que no interfiera entre el haz de rayos X y el material a analizar. Asimismo el porta se

encuentra fijado a un goniómetro de tipo vertical, el cual es controlado automáticamente sobre un rango angular por un ordenador.

- Detectores, pueden ser de ionización de gases, centelleo y semiconductores.
- Ordenador con el software que controla el conjunto de la máquina.

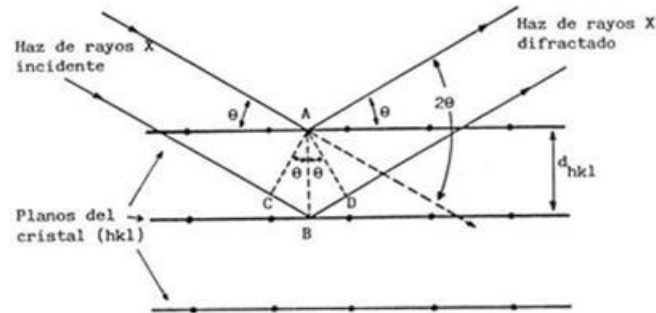


**Figura AII-0-2** Ejemplo de difractómetro de rayos X:

- 1) Tubo de rayos X
- 2) Portamuestra
- 3) Detector de rayos X
- 4) Goniómetro
- 5) Control del generador de rayos X

El principio de funcionamiento en el que se basa esta técnica es en la interacción de los rayos X con la estructura cristalina de un sólido, concretamente en un fenómeno que es conocido como dispersión (scattering) en el que una parte de la radiación X incidente se desvía de su dirección original por interacción con los átomos del material. La estructura citada está presente en muchos sólidos, tanto artificiales como naturales, y consiste en la repetición periódica de los átomos o moléculas que forma este sólido en las tres direcciones del espacio.

La incidencia de la radiación X primaria sobre el material de estudio provoca la desviación del fotón de su dirección original dando lugar a la dispersión de la radiación y provocando interferencias entre ellas. La mayoría serán, en mayor o menor medida, destructivas ya que las ondas no están en fase y una minoría serán constructivas (Figura AII-0-3) al estar en fase de forma que el haz difractado no se anula y se puede detectar. Los fenómenos de difracción se producen cuando los rayos X se encuentran con obstáculos del orden de su longitud de onda, como es el caso de las estructuras cristalinas, que provoca la desviación del mismo donde la geometría de las direcciones de difracción está condicionada únicamente por el tamaño y la forma de la celdilla unidad del cristal y la intensidad está íntimamente relacionado con la naturaleza de los átomos y con las posiciones que estos ocupan.



**Figura AII-0-3** Difracción de rayos X por los planos de un cristal (onda constructiva).

La condiciones que se deben cumplir para que se produzcan los fenómenos de difracción viene expresado de forma sencilla por ley de Bragg (ecuación AII.1), donde  $n$  es un número entero,  $\lambda$  es la longitud de onda,  $d$  es la distancia entre los planos paralelos sucesivos, y  $\theta$  es el ángulo de incidencia y reflexión de los rayos X sobre el plano considerado. La intensidad máxima se dará cuando los átomos se encuentran exactamente situados en los planos del cristal y las intensidades menores vendrán provocadas por los átomos que se encuentren entre medias de estos planos.

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta \text{ Ec. de Bragg (AII.1)}$$

Finalmente las radiaciones emitidas por el material en estudio son recogidas por los detectores y procesadas por el ordenador para obtener el difractograma.